

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA - Béjaïa -
Faculté des Sciences Exactes
Département de Chimie

Mémoire de Master

Présenté par :

Nabila BENNAI

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Option : Analyse

Étude de la cinétique de relargage de la metformine à travers un mélange de polymères PCL/PEG

Soutenu le : 02/07/2012

Devant le jury composé de :

Mr H. SIFAOU	Président
Mme F. DJERADA	Examinatrice
Mme N. DJAMA	Encadreur

2011-2012

Remerciements

Tout d'abord je remercie mon DIEU le tout puissant.

Mes vifs remerciements s'adressent au Vice Doyen de la faculté des sciences exactes, Monsieur BOUKEROUI et au Chef de Département de chimie, Monsieur BENMERRAD, ainsi qu'à tous mes enseignants et enseignantes en Master Analyse qui m'ont accordé l'occasion et la chance de suivre cette formation de Master.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire des Matériaux Organique, sous la direction de Monsieur F.REZGUI à qui j'adresse mes remerciements les plus distingués pour sa présence, sa gentillesse, sa patience et ses encouragements et conseils.

Je tiens à remercier chaleureusement ma promotrice Madame N. DJAMA qui trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude pour sa gentillesse, disponibilité, patience et sa bienveillance.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur H.SIFAOUÏ qui m'a fait l'honneur de présider le jury et à Madame F.DJERADA qui a accepté d'examiner ce travail.

Merci à mes parents et à mes frères et sœurs pour leurs soutiens durant toutes ces longues années.

Enfin que toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à achever ce travail, trouvent ici toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements.

Dédicaces

A toute ma famille

A mes amies et tous ceux qui me sont chers í

IV.2.2. Polyéthylène glycol (PEG)	35
IV.2.3. Chlorhydrate de metformine	35
IV.3. Élaboration du mélange PCL/PEG	36
IV.3.1. L'extrusion	36
IV.3.2. Présentation de l'extrudeuse	36
IV.3.3. Mode opératoire	37
IV.4. Élaboration des formulations	38
IV.4.1. Mode opératoire	38
IV.5. Techniques de caractérisation des échantillons	39
IV.5.1. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	39
IV.5.2. Diffraction des rayons X	39
IV.5.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	40
IV.5.4. Caractérisation par Microscope Electronique à Balayage (MEB)	41
IV.6. Cinétique de relargage du principe actif	41
IV.6.1. Préparation des pastilles	41
IV.6.2. Préparation du milieu physiologique	41
IV.6.3. Essais de dissolution et mesure de la densité optique	41
IV.6.3.1. Description du dissolu testé	41
IV.6.3.2. Le protocole expérimental du test de dissolution	42

Chapitre V : Résultats et discussions

Partie V. 1: Caractérisations

V.1.1. Introduction	44
V.1.2. Caractérisation de la matière première	44
V.1.2.1 : Analyse par diffraction des rayons X	44
V.1.2.2 : Analyse par spectrophotométrie IRTF	46
V.1.3. Caractérisation du mélange PCL/PEG	49

V.1.3.1 : Analyse par diffraction des rayons X	í í í í í í í í ...í í í í í	..49
V.1.4. Caractérisation des formulations	í í í í í í í í í í í í ...í í í í í í í	..51
V.1.4.1. Analyse par diffraction des rayons X	í í í í í í í í í í í í í í í	..51
V.1.4.2. Analyse par spectrophotométrie IRTF	í í í í í í í í í í í í í	..52
V.1.4.3 Analyse calorimétrique différentielle (DSC)	í í í í í í í í í í í í53
V.1.4.4. Analyse MEB	í í í í í í í í í ..í í í í í í í í í í í í í í	..54

Partie V. 2 : Cinétique de relargage de la metformine

V.2.1. Cinétique de relargage	í í í í í í í í í í í í í í í í í í ...í55
V.2.2. Effet du diamètre des granulés sur la cinétique de libération	í í í í í í í í í	58
Conclusion générale	í í	..61
Références bibliographiques.		

Liste des figures

Figure 1: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques (Page 02).

Figure 2: Les générations de vecteurs de médicaments (Page 05).

Figure 3: Représentations schématiques des micelles (Page 05).

Figure 4: Liposome de troisième génération (Page 06).

Figure 5: Capsules creuses de polymère pour vectorisation (Page 09).

Figure 6: Encapsulation d'une substance active par polycondensation interfaciale (Page 12).

Figure 7: Représentation schématique des différents modes de relargage des microparticules et allure des cinétiques de relargage (Page 13).

Figure 8: Profils de cinétique de libération des principes actifs (Page 14).

Figure 9: Libération du principe actif à partir d'une matrice inerte (Page 18).

Figure 10: Représentation d'une matrice hydrophile : Mécanisme de libération du principe actif (Page 20).

Figure 11: Matrice érodable (libération par érosion du principe actif (Page 20).

Figure 12: structure chimique du Chlorhydrate de metformine (Page 22).

Figure 13: Structure chimique du polycaprolactone (Page 26).

Figure 14: Polymérisation de la ϵ -caprolactone (Page 26).

Figure 15: structure chimique du polyéthylène glycol (Page 31).

Figure 16: L'extrudeuse de type 5&15 Micro compounder DSM Xplore, modèle 2005 (Page 37).

Figure 17: Réflexion des rayons X par une famille de plans réticulaires (Page 39).

Figure 18 : Courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration de chlorhydrate de metformine (Page 43).

Figure 19 : Spectre DRX du polycaprolactone (Page 44).

Figure 20 : Spectre DRX du polyéthylène glycol (Page 45).

Figure 21: Spectre DRX de Chlorhydrate de metformine. (Page 46).

Figure 22: Spectre IR-TF du polycaprolactone (Page 46).

Figure 23 : Spectre infrarouge du polyéthylène glycol (Page 47).

Figure 24: Spectre IR-TF de Chlorhydrate de metformine (Page 48).

Figure 25 : Spectre DRX du mélange PCL/PEG (Page 49).

Figure 26: Zoom du spectre DRX du mélange PCL/PEG (Page 50).

Figure 27: spectre DRX des formulations (Page 51).

Figure 28: Zoom du spectre DRX des formulations (Page 51).

Figure 29: spectre IR-TF des formulations (Page 52).

Figure 30: courbes DSC des formulations (Page 53).

Figure 31: Micrographies MEB des formulations (Page 54).

Figure 32: cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 2 mm (Page 55).

Figure 33: cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 0.5 mm (Page 55).

Figure 34: Zoom de première partie du graphe : cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 2 mm (Page 56).

Figure 35: Zoom de première partie du graphe : cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 0.5 mm (Page 56).

Figure 36: Représentation de la masse maximale de metformine libéré en fonction du pourcentage du PEG (Page 58)

Figure 37: Effet du diamètre de la formulation F0 (Page 59).

Figure 38: Effet du diamètre de la formulation F20 (Page 59).

Figure 39: Effet du diamètre de la formulation F25 (Page 59).

Figure 40: Représentation de la masse maximale de metformine libéré en fonction du pourcentage du PEG pour les deux diamètres (Page 60).

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des vecteurs des médicaments (Page 03).

Tableau 2: Propriétés physicochimiques de la polycaprolactone (Page 28).

Tableau 3: Proportion des différents constituants des mélanges obtenus. (Page 38).

Tableau 4: Proportion des différents constituants des formulations obtenus. (Page 38).

Tableau 5: les principales bandes d'absorption de la polycaprolactone en infrarouge. (Page 47).

Tableau 6: les différents groupements fonctionnels du polyéthylène glycol. (Page 48).

Tableau 7: différents groupements fonctionnels de chlorhydrate de metformine et leurs modes de vibrations. (Page 49).

Tableau 8: Températures de fusion de la metformine, PCL et PEG purs. (Page 53).

Tableau 9: Températures de fusion des formulations F0 et F25. (Page 53).

Liste des abréviations

PCL : Polycaprolactone .

PEG : Poly(éthylène glycol).

Met : Metformine.

PLA : Poly(acide lactique).

PGA : Poly(acide glycolique) .

PLGA : Poly(lactide-coglycolide).

IR-TF : Spectroscopie infrarouge à transformé de fourrier.

DRX: Diffraction des rayons X ;

MEB : Microscopie électronique à balayage.

DSC: Analyse calorimétrique différentielle

DL50: Dose létal pour 50 % des échantillons.

Introduction générale

Les nanosciences et les nanotechnologies se développent à grands pas dans le domaine du vivant et de la santé. Cette Transversale a illustré différents types de vecteurs, ces complexes moléculaires, sphériques ou vésiculaires, sont susceptibles de s'introduire dans l'organisme pour des intérêts thérapeutiques majeurs.

Deux critères majeurs sont examinés lors de la sélection des polymères pour la fabrication des vecteurs microparticulaires ou nanoparticulaires, soient la biocompatibilité et la biodégradabilité. Le polymère doit être dégradable dans des conditions physiologiques par des voies enzymatiques ou non enzymatiques afin d'être métaboliser et éliminer de l'organisme.

De nombreux polymères naturels et synthétiques ont été testés pour la vectorisation des principes actifs. On limite l'utilisation des polymères naturels à cause de leurs difficultés de purification, leurs effets secondaires au niveau de l'organisme et leur prix élevé. Pour ces raisons, un intérêt croissant a été accordé aux polymères synthétiques biodégradables dont la composition chimique peut être plus facilement contrôlée. A cet égard les polymères les plus étudiés sont les polyesters et les polyéthers. Notre choix est porte sur un mélange de polymères formé du polycaprolactone et du polyéthylène glycol (PCL/PEG) élaboré par extrusion pour encapsuler le chlorhydrate de metformine.

Ce manuscrit se décompose en deux parties principales :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique portant sur les polymères et la vectorisation des principes actifs ainsi que les propriétés physicochimiques du polycaprolactone et du polyéthylène glycol.

La deuxième partie décrit les protocoles expérimentaux et les différentes techniques d'analyses utilisés dans cette étude, en plus de la cinétique de relargage de la metformine à travers les formulations élaborées.

Partie 1 : Vectorisation

I.1.1. Concept de la vectorisation :

Le concept de vectorisation consiste à véhiculer une substance chimique biologiquement active du site d'administration vers le site actif. Dès le début du vingtième siècle, le savant Paul Ehrlich rêvait déjà du « magic bullet » susceptible d'acheminer un médicament de manière spécifique. Cet adressage peut se faire de manière spécifique ou non, au moyen d'un vecteur hydrophile ou hydrophobe n'exerçant aucune action thérapeutique. Le vecteur permet au principe actif de franchir les barrières biologiques. Ces barrières sont des systèmes très complexes faisant intervenir plusieurs éléments (épithélium, endothélium, membrane cellulaire) et plusieurs composantes (barrières mécaniques ou physico-chimiques et barrières enzymatiques). Ce sont les propriétés du vecteur et non celles du principe actif qui détermineront le sort du système *in vivo* [1].

Les enjeux de la pharmacie galénique moderne sont donc la mise au point de systèmes d'administration permettant d'assurer un ciblage de la substance active, un traitement moins agressif, une meilleure biodisponibilité et une mise à disposition progressive. Aujourd'hui, des particules de l'ordre de micromètre et nanomètre sont synthétisées pour une meilleure administration et acheminement de plusieurs principes actifs vers leurs sites d'actions [2].

Une nanoparticule est un assemblage de quelques centaines à quelques milliers d'atomes, formant un objet dont la dimension est comprise entre 1 et 100 nm. Elles se situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines, cette faible taille leur confère des propriétés intéressantes, ces particules ont effectivement l'avantage de former des solutions homogènes qui ne sédimentent pas. Mais ce sont surtout leurs capacités à échapper aux défenses immunitaires et leur capacité à cibler une population de cellules particulières qui en font des vecteurs prometteurs [3].

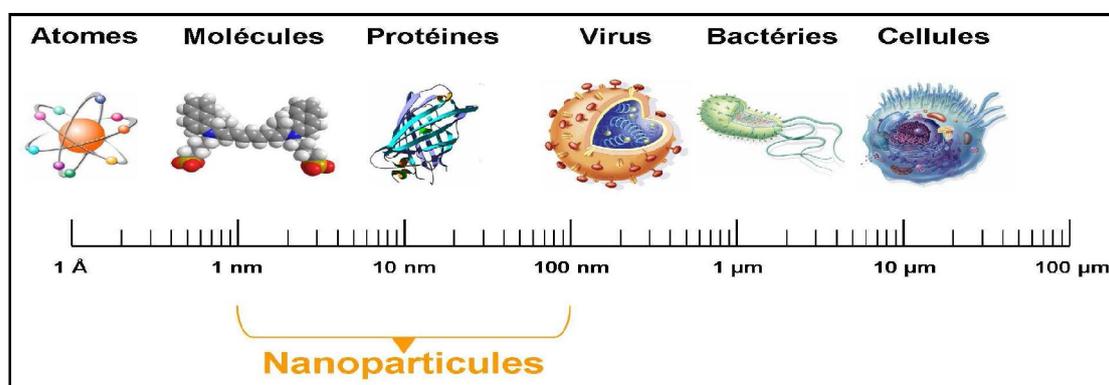


Figure 1: Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques [3].

I.1.2. Différents types de vecteurs :

On distingue deux grands types de vecteurs : les espèces macromoléculaires solubles et les entités non solubles de nature corpusculaire.

I.1.2.1. Les vecteurs macromoléculaires :

L'association d'un principe actif à des macromolécules peut être réalisée de façon covalente ou par interaction physique. Les polymères utilisés comme vecteurs macromoléculaires sont d'origine naturelle comme les polysaccharides et les protéines, ou synthétiques comme le poly(oxyde d'éthylène) (POE) ou la polyvinylpyrrolidone (PVP). La liaison covalente peut être réalisée par exemple entre une fonction amine du principe actif et une fonction carboxylique de la macromolécule [4].

I.1.2.2. Les vecteurs corpusculaires :

Les vecteurs corpusculaires sont des réservoirs de principe actif qui servent à isoler et à le protéger de l'environnement biologique [5].

Selon Benoit et coll., (1986), la distinction de ces vecteurs s'effectue selon 3 critères : la taille, le ciblage envisagé et le mécanisme de vectorisation (tableau 1) [6]

Tableau 1 : Classification des vecteurs de médicaments (selon Benoit et coll., 1986) [6].

Génération	Première	Deuxième	Troisième
Ciblage	Organes	Tissus	Cellules
Taille	> 1 µm	< 1 µm	< 1 µm
Vecteurs	Microsphères. Microcapsules. Microagrégats.	Liposomes. Nanosphères. Nanocapsules.	Liposomes. Nanocapsules. Nanosphères. (pilotées par des molécules de reconnaissance)
Mécanisme	Embolisation (diffusion du principe actif dans la cible).	Capture par le système phagocytaire.	Reconnaissance de la cible.

➤ *Les vecteurs de première génération:*

Des vecteurs dits de première génération, ont été mis au point dans les années 1970 par des équipes européennes [7,8]. Ils sont de taille supérieure au micromètre, soit de type matriciel (microsphère), soit de type vésiculaire (microcapsule), destinés à être injectés en amont du tissu visé, La molécule active est alors libérée de manière progressive et peut diffuser dans la cible généralement tumorale. Cependant, ils sont souvent détectés par le système immunitaire et rapidement pris en charge par les macrophages de l'organisme [9].

➤ *Les vecteurs de deuxième génération (furtifs) :*

Afin de pouvoir atteindre la zone d'intérêt et d'éviter la phagocytose, des vecteurs dits « furtifs », c'est à dire invisibles pour les macrophages, ont été développés en modifiant leurs surfaces à l'aide de polymères hydrophiles et flexibles, typiquement le polyéthylène glycol (PEG), c'est le plus couramment utilisé car il a l'avantage d'être biocompatible, soluble en milieu aqueux, non toxique, et il a en outre une faible antigénicité. Il est de plus autorisé à l'injection chez l'homme par la FDA (« Food and Drug Administration » : organisme autorisant la commercialisation des médicaments sur le territoire des États-Unis d'Amérique) [10,11].

➤ *Les vecteurs de troisième génération (ciblants) :*

Dans le but d'augmenter l'affinité des vecteurs pour un type tissulaire ou cellulaire bien défini, la notion d'adressage moléculaire orienté vers des marqueurs spécifiques est apparue. Les vecteurs de troisième génération présentent la particularité de porter un système de ciblage cellulaire spécifique appelé ligand. Il est souvent de nature protéique, greffé à la surface des vecteurs afin d'y être exposé et de pouvoir interagir avec des récepteurs exhibés sur les surfaces des cellules cibles. Ainsi, maîtriser grâce à ces vecteurs la distribution spatiale et temporelle de molécules biologiquement actives dans l'organisme est, sans conteste, une application qui peut contribuer à l'amélioration de la thérapeutique [12 ,13].

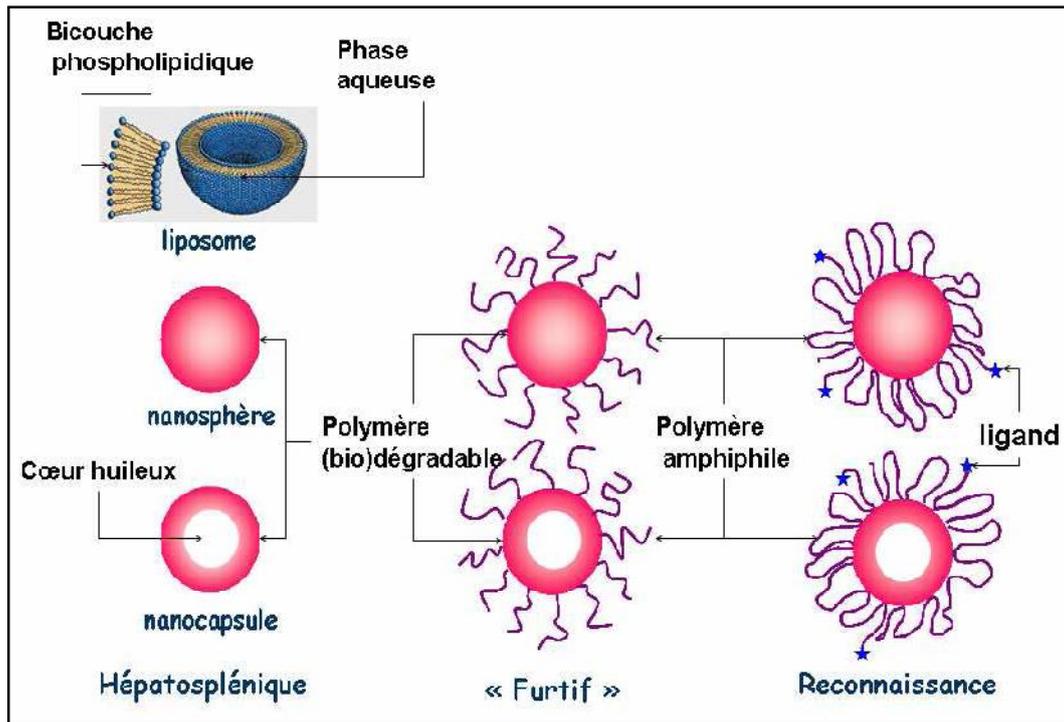


Figure 2 : Les générations de vecteurs de médicaments [13].

1.1.3. Les différentes micro et nanoparticules :

1.1.3.1. Micelles :

Une micelle est un agrégat sphéroïdal de molécules possédant une tête polaire hydrophile dirigée vers le solvant et une chaîne hydrophobe dirigée vers l'intérieur. L'hydrophobie constitue donc la principale force motrice de l'auto-association de ces structures, qui forment des micelles lorsque leur concentration dans le milieu dépasse une valeur seuil nommé concentration micellaire critique, ainsi, ces molécules amphiphiles s'autoassemblent pour regrouper leurs parties hydrophobes et exposer en surface uniquement leurs domaines hydrophiles. Ces formes de 100 à 300 nm sont donc capables de véhiculer des quantités importantes en principe actif [14-16].

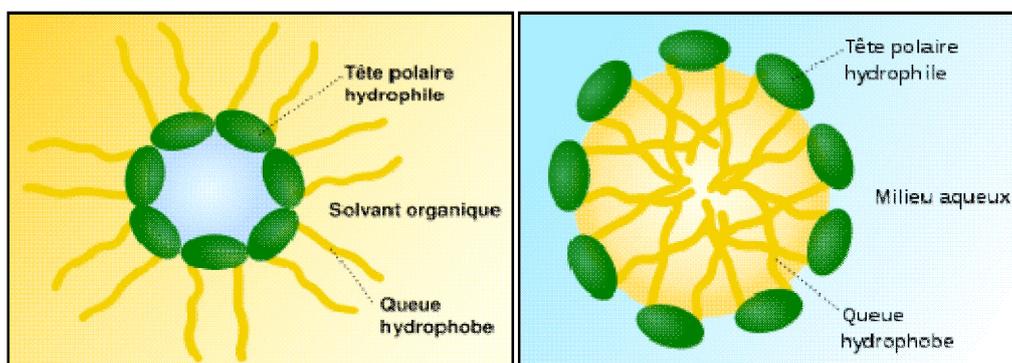


Figure 3 : Représentations schématiques des micelles [16].

I.1.3.2. Liposomes :

Les liposomes sont des vésicules constituées d'une ou plusieurs doubles couches de phospholipides et de molécules de cholestérol encapsulant un réservoir aqueux. La taille des liposomes varie entre 30 nm et plusieurs micromètres. Ces particules sont depuis de nombreuses années utilisées comme outils pour la biologie, la biochimie et la médecine en tant que transporteurs de principes actifs thérapeutiques ou d'agents d'imagerie [17,18]. Leur caractère non toxique et biocompatible fait de ces colloïdes des systèmes intéressants pour les applications *in vivo*. Cependant, ils montrent une faible capacité d'encapsulation (notamment pour les molécules lipophiles piégées dans la double couche de phospholipides), et un relargage précoce des principes actifs hydrophiles dans le sang [19].

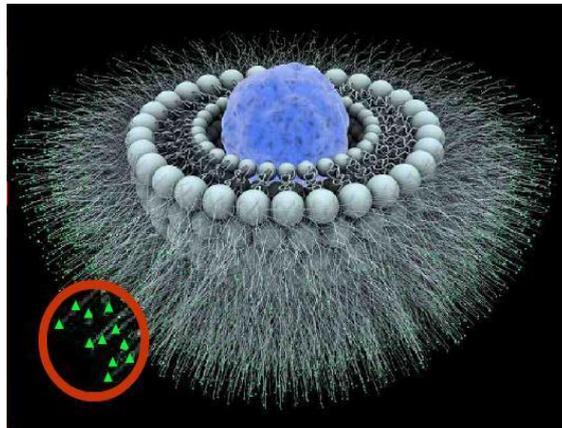


Figure 4 : Liposome de troisième génération [20] .

I.1.3.3. Nanoparticules polymériques :

Les polymères ont l'avantage d'avoir une grande biocompatibilité et d'être biodégradables par l'organisme. Ils sont ainsi utilisés depuis de nombreuses années pour fabriquer des dispositifs médicaux et des implants sous-cutanés. Les nanoparticules polymériques offrent de plus une meilleure stabilité que les liposomes, que se soit *in vivo* ou durant le stockage. Cependant, ils ne sont pas dénués de toute cytotoxicité vu la présence de solvants organiques toxiques résiduels au sein de ces nanoparticules. On trouve également l'existence des dendrimères et des nanogels.

Les dendrimères sont des complexes polymériques de taille comprise entre 1 et 10 nm qui se construisent par l'ajout contrôlé de couches successives de monomères, chaque monomère possédant au moins trois sites réactifs. Ces constructions polymériques fortement branchées ont une structure bien contrôlée mais malheureusement leur synthèse est très délicate [21].

Quant aux nanogels, ce sont des structures moins courantes constituées de polymères hydrophiles. Contrairement aux nanoparticules polymériques précédemment décrites, leurs chaînes ne sont pas fortement imbriquées les unes dans les autres, ce qui leur confère une flexibilité plus importante. La particule finale, gonflée d'eau, offre ainsi une grande surface spécifique et une importante capacité d'encapsulation [22, 23].

1.1.3.4. Nanoparticules inorganiques :

Outre les nanoparticules organiques, des nanoparticules inorganiques ont également été développées. Les plus courantes sont les nanoparticules métalliques d'or [24, 25] ou d'argent, les nanoparticules en silice [26] et les nanoparticules magnétiques. Celle-ci se basent sur l'utilisation d'oxydes de fer superparamagnétiques comme les petites particules de magnétite (Fe_3O_4), elles sont de quelques nanomètres de diamètre et peuvent être encapsulées dans une matrice de silice, de polymère ou de polysaccharide [27]. Les nanoparticules magnétiques sont impliquées dans l'imagerie par résonance magnétique et dans le traitement des tumeurs [28].

1.1.4. Avantages de la vectorisation des médicaments :

1.1.4.1. Protection du principe actif:

Le premier avantage consiste à protéger le principe actif de toute dégradation ou inactivation chimique, enzymatique ou immunologique. Ceci est particulièrement intéressant pour les principes actifs dont les propriétés physicochimiques sont instables et leur durée de vie est faible [29].

I.1.4.2. Sélectivité de la libération:

La libération du principe actif au niveau de la cible grâce à l'interaction spécifique ligand-récepteur permet à la fois de limiter la biodistribution de médicament au sein de l'organisme et de réduire les effets secondaires indésirables au niveau des organes sains [30].

I.1.4.3. Réduction des effets toxiques:

De nombreuses thérapies, en particulier le traitement du cancer, utilisent des molécules toxiques. Pour assurer l'efficacité thérapeutique d'un principe actif, il est néanmoins nécessaire d'administrer une quantité importante de ce dernier et à plusieurs reprises afin d'obtenir l'efficacité souhaitée, ce qui peut provoquer des effets indésirables liés à la toxicité de la molécule. La libération progressive du médicament assure une diminution du nombre d'administration et améliore le confort du patient [31].

I.1.4.4. Efficacités pharmacocinétique:

La libération contrôlée du principe actif permet d'ajuster la concentration de celui-ci dans la zone de l'efficacité thérapeutique. En effet, la concentration en médicament doit dépasser le niveau minimum d'efficacité, tout en restant inférieure au niveau toxique. La vectorisation assure une concentration quasi constante comprise entre ces deux niveaux, pendant une durée bien supérieure à celle obtenue avec une administration classique [32,33].

Partie 2 : Implication des polymères dans la vectorisation

I.2.1. Principaux polymères utilisés pour la vectorisation des médicaments :

Les polymères sont des macromolécules formées de l'enchaînement covalent d'un très grand nombre d'unités répétitives dénommées monomères ou motifs. Leur masse molaire est très élevée et souvent supérieure à 10 000 g/mol. Conçus pour leurs diverses propriétés, les polymères utilisés pour la vectorisation des médicaments présentent plusieurs avantages tel que leur stabilité, leur forte capacité d'encapsulation de principes actifs, leur petite taille, ainsi que la possibilité de moduler leur propriétés de surface. Cependant, il reste encore difficile de préparer des systèmes capables d'assurer simultanément plusieurs fonctions [34]. Ces polymères sont classés en deux grands groupes [35,36]:

- Les polymères d'origine naturelle comme la gélatine, l'alginate qui est un polysaccharide linéaire extrait des plantes marines (algues), le chitosane (polysaccharide trouvé principalement chez les champignons) et l'amidon. Ainsi que les glycérides, les corps gras solides et les cires tel que la cire d'abeille.
- Les polymères de synthèse : ils sont obtenus par polymérisation de molécules monomères, on peut citer : le poly(acide glycolique) (PGA), le poly(acide lactique) (PLA), le polycaprolactone (PCL) et le poly(éthylène glycol) (PEG).

La vectorisation des médicaments a ainsi été envisagée pour la première fois dans les années 1970 (figure 5), [4].

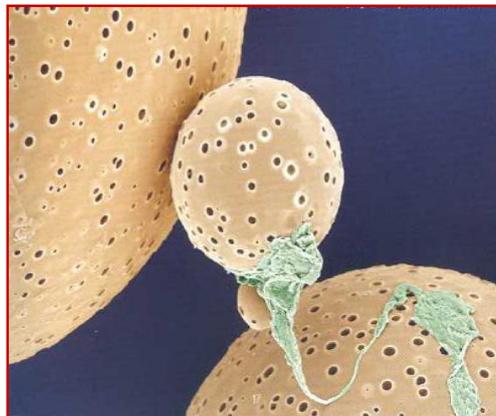


Figure 5 : Capsules creuses de polymère pour vectorisation [4].

En 1980, Couvreur et ses collaborateurs ont développé des nanoparticules polymériques à base de polyalkylcyanoacrylates [37]. Différents polymères ont ensuite été utilisés avec succès pour former des nanoparticules, les plus couramment utilisés actuellement étant le poly(acide lactique) (PLA), le poly(acide glycolique) (PGA) et leur copolymère le poly(lactide-coglycolide) (PLGA), le polycaprolactone (PCL) et le poly(éthylène glycol) (PEG) [38].

Les liposomes possèdent aussi une bonne biocompatibilité en raison des matières premières dont ils sont constitués (phospholipides naturels, stérols, sphingolipides) et peuvent se comporter comme des formes médicamenteuses à libération modifiée. Cependant, ces structures vésiculaires sont instables chimiquement (oxydation et hydrolyse des phospholipides) et physiquement (agrégation, fusion et perte du contenu). C'est pourquoi elles sont parfois recouvertes de poly(éthylène glycol) [39] ou de polysaccharides (dextran, chitosane) [40,41].

1.2.2.Méthodes de préparation des microcapsules :

1.2.2.1.L'enrobage classique :

C'est la technique adaptée par l'industrie pharmaceutique. Il s'agit de l'enrobage du principe actif dans une capsule ou un comprimé à base d'amidon, saccharose ou cellulose qui sont facilement dégradables par les enzymes *in vivo*, ce qui facilite la libération du principe actif qui sera aussi dégradé rapidement par les protéases, cela représente l'inconvénient majeur de cette technique [42].

1.2.2.2.Méthodes d'encapsulation:

Un grand nombre de méthodes existe pour obtenir des systèmes microparticulaires, elles peuvent être classées en trois grandes classes de procédés :

- Les procédés physico-chimiques comme la gélification thermique et la technique d'évaporation de solvant. Elles sont basées sur des variations de solubilité des agents

enrobants sous l'effet de variations des conditions physiques (température, pH, changement d'état).

- Les procédés mécaniques comme l'extrusion ou la formation de gouttes.
- Les procédés chimiques, comme la polymérisation, au cours de laquelle se déroulent de manière simultanée la synthèse de la membrane (ou de la matrice) et l'encapsulation de la matière active [43].

➤ **Technique d'évaporation de solvant :**

Le polymère destiné à constituer la membrane de la capsule est solubilisé dans un solvant organique volatil. Une solution aqueuse incluant la substance à encapsuler ainsi qu'un surfactant est ensuite utilisée pour créer une émulsion E/H par mélange avec le solvant organique contenant le polymère. Une deuxième solution aqueuse contenant un surfactant est mélangée au système précédent. On obtient une émulsion complexe E/H/E. Par évaporation du solvant organique sous pression, on provoque la précipitation du polymère entre les deux phases aqueuses. Il suffit ensuite de séparer les capsules formées du milieu aqueux dispersant [43].

➤ **Coacervation :**

La coacervation est un procédé physico-chimique colloïdal qui implique la diminution de solubilité d'un polymère dans un solvant par addition de quantité importante de différents composés : un alcool, un deuxième polymère plus soluble ou un sel (sulfate de sodium). Les molécules de polymère qui sont désolvatées coalescent et forment des gouttelettes, dites gouttelettes de coacervat. Il existe deux types : la coacervation simple et complexe [44]:

▪ **Coacervation simple :**

Comme son nom l'indique, c'est un procédé très simple à réaliser, les gouttelettes de coacervat sont formées par addition d'un alcool concentré comme l'éthanol à 50% ou le sulfate de sodium au milieu réactionnel.

▪ **Coacervation complexe :**

La coacervation complexe repose sur le même principe que la coacervation simple sauf que le polymère en solution dans la phase continue est un polymère chargé et la réaction est amorcée par l'ajout d'un deuxième polymère de charge opposé afin de modifier la solubilité du premier polymère.

➤ **Polycondensation interfaciale :**

C'est un procédé chimique où la membrane polymérique de la microcapsule est créée par synthèse du polymère *in situ*. La technique repose sur la présence de deux monomères réactifs solubles respectivement dans chacune des phases d'une émulsion. La réaction de polymérisation se déroule à l'interface Eau / Huile créant ainsi la paroi d'une capsule [44].

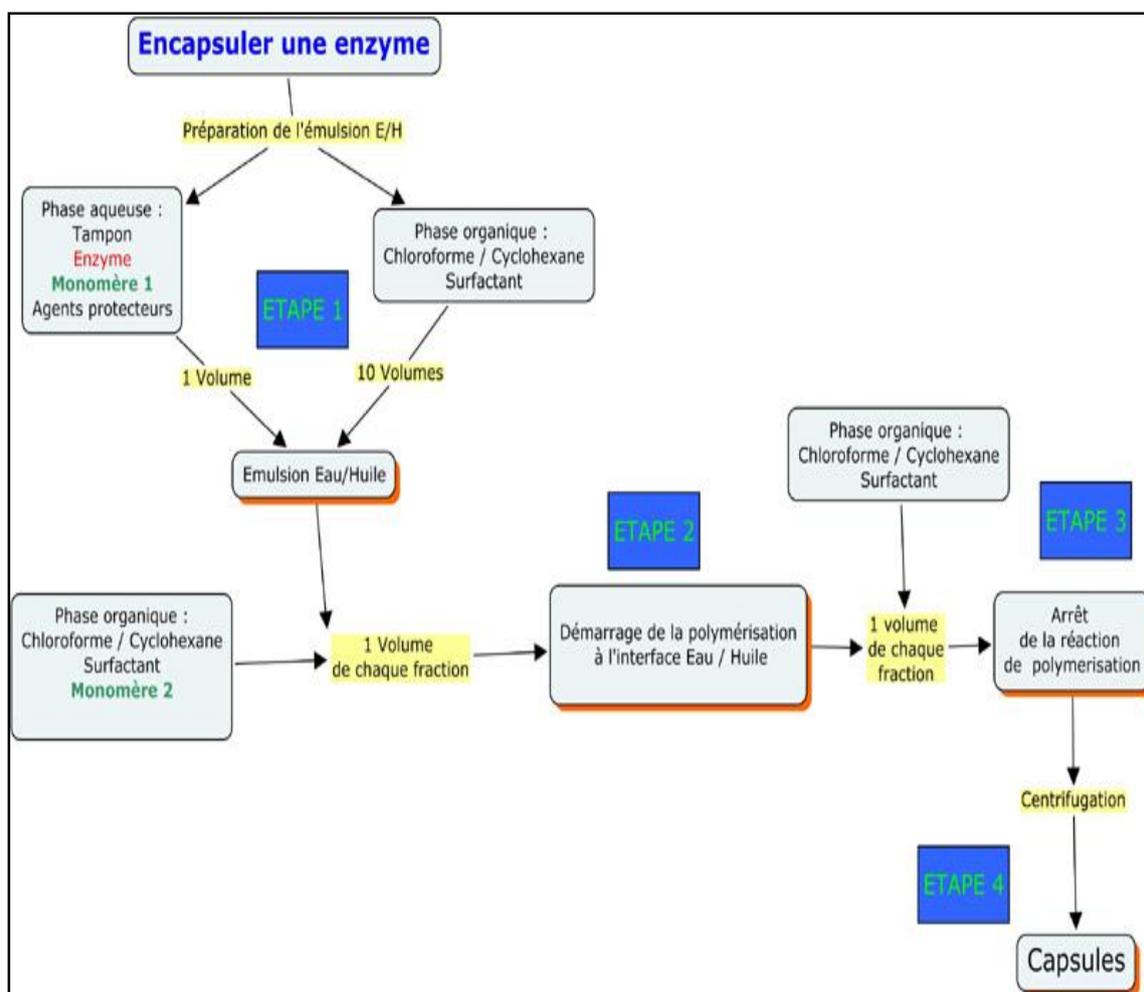


Figure 6 : Encapsulation d'une substance active par polycondensation interfaciale [44].

I.2.2.3. Propriétés de l'encapsulation des microparticules :

En fonction de l'application visée, les nano/microparticules sont conçues pour libérer le principe actif, soit de manière déclenchée, soit de manière continue (figure 7). Les systèmes à libération déclenchée sont généralement des microcapsules formées d'une membrane de faible perméabilité qui vont libérer brutalement leur contenu par éclatement de cette dernière. La rupture est alors déclenchée, soit par une pression (mécanique ou osmotique), une variation de température, une variation de pH ou encore la dégradation enzymatique de la membrane. Les systèmes à libération continue sont majoritairement des microsphères. Les mécanismes mis en jeu sont, soit la diffusion de l'espèce à travers la matrice, soit la dégradation (érosion) ou la dissolution de la matrice ou encore un couplage des deux [45].

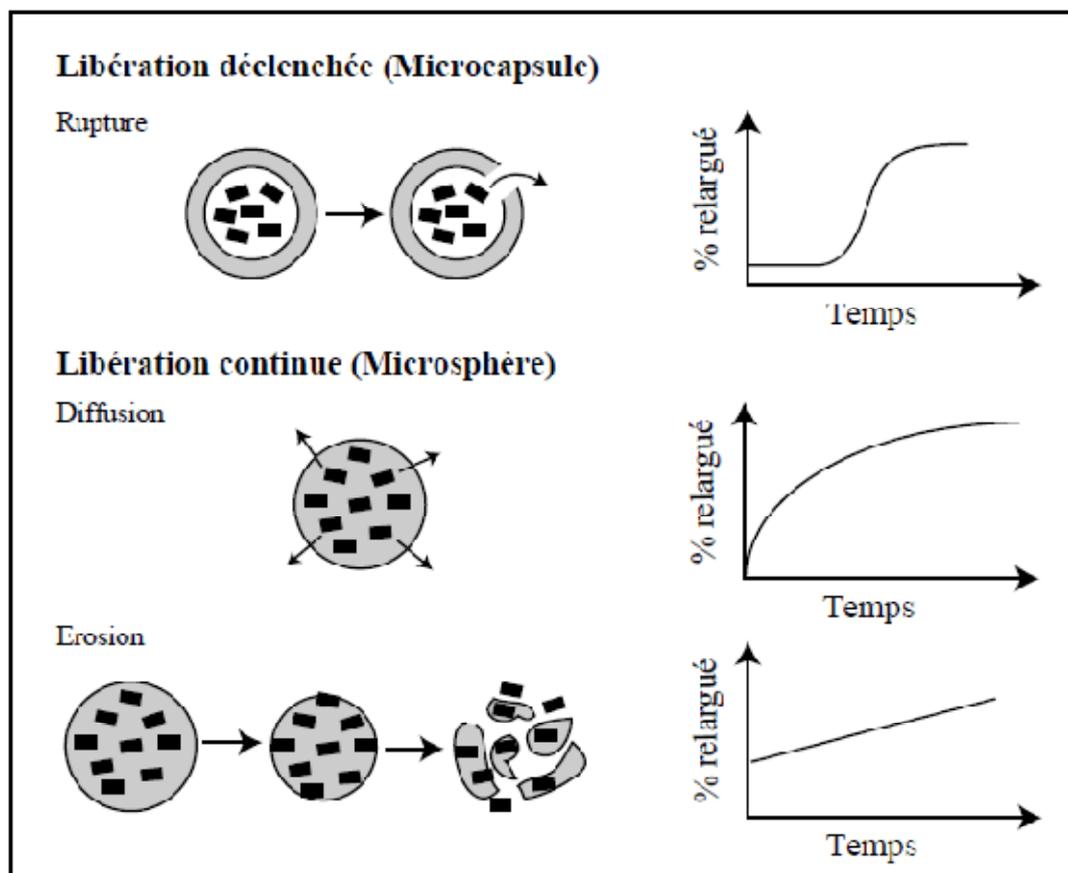


Figure 7 : Représentation schématique des différents modes de relargage des microparticules et allure des cinétiques de relargage [46].

Les profils de la figure précédente représentent l'allure générale des différents modes de relargage des microparticules. Cependant, les cinétiques de libération de l'espèce encapsulée sont avant tout déterminées par les caractéristiques physicochimiques du système. Ces caractéristiques physicochimiques sont fonction du type de polymère utilisé, du taux d'encapsulation et aussi du processus de fabrication [46].

Le lien établi entre la particule et la molécule active influence aussi sa cinétique de libération. La molécule active peut être insérée dans le système au cours du processus de fabrication ou après formation de la particule. Dans le premier cas, un couplage covalent entre la molécule et le polymère peut s'établir. La molécule peut se trouver sous forme de solution solide ou dispersée au sein de la matrice. Dans le deuxième cas, après fabrication de la particule, la molécule active est adsorbée à sa surface. Elle peut alors rester à la surface ou diffuser vers la matrice et former une solution solide [46].

La cinétique de libération des principes actifs encapsulés est un élément critique des formes multiparticulaires dispersées. En effet, ces formes doivent être capables de libérer, selon une cinétique constante préalablement définie et de façon reproductible, le principe actif encapsulé. Or certaines de ces formes ont été mises au point pour délivrer de façon constante le principe actif pendant plusieurs mois. Il en résulte divers profils de libération cumulée au cours du temps dans le cas de systèmes biodégradables et qui sont schématisés dans la figure ci-dessous [47] :

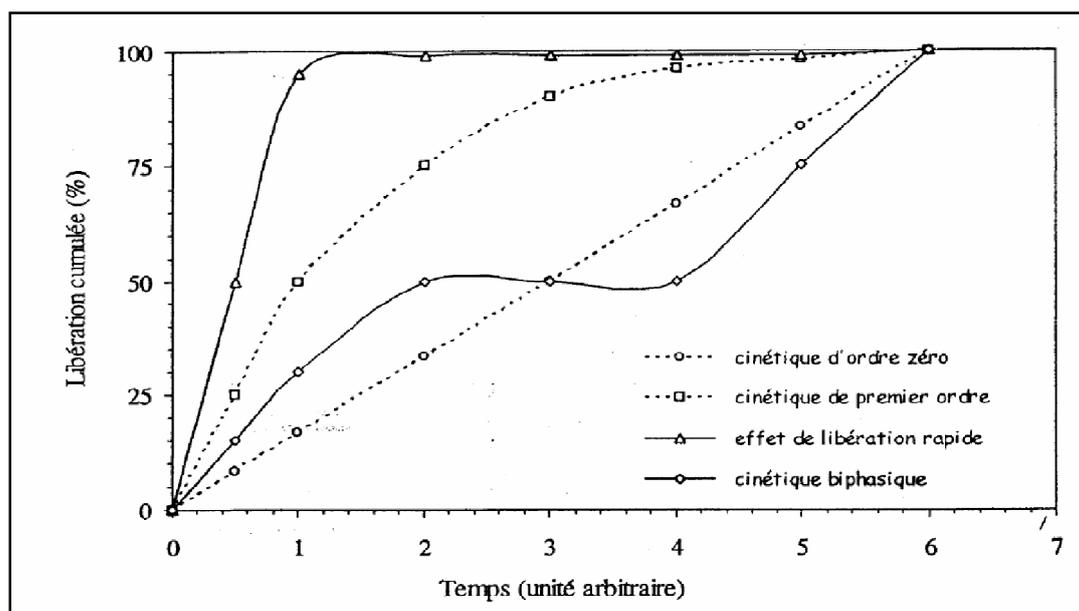


Figure 8 : Profils de cinétique de libération des principes actifs [47].

✚ La libération initiale rapide et en quantité importante est un cas nommé effet «burst » ou « burst effect » en anglais, il caractérise une libération immédiate du principe actif. In vivo, cette libération initiale peut avoir des conséquences cliniques importantes pouvant expliquer une toxicité initiale liée à une concentration trop élevée du principe actif dans l'organisme. Ce type de profil de libération est observé généralement dans les cas des principes actifs adsorbés en surface des particules, lorsque les interactions principe actif-polymère ne sont pas très fortes, dans le cas d'une distribution non homogène du principe actif dans la matrice ou encore dans le cas de particules poreuses. Le principe actif est alors libéré avant que la matrice ne se dégrade [47].

✚ Une cinétique d'ordre zéro reflète une libération idéale et totalement contrôlée.

✚ La cinétique de premier ordre correspond à la majorité des profils observés lors de la libération de principes actifs encapsulés dans les nano/microparticules. Au début de la libération la vitesse est rapide (diffusion du principe actif encapsulé proche de la surface) puis se ralentit (diffusion plus lente du principe actif qui se trouve au cœur de la matrice) [47].

✚ La cinétique biphasique reflète un mode de libération généralement dépendant de la dégradation de la matrice. Dans un premier temps, la cinétique de libération correspond à la diffusion du principe actif au proche voisinage de la surface. Dans un second temps, il faut attendre la dégradation de la matrice pour que la totalité de principe actif soit libérée [47].

1.2.4. Les principaux paramètres qui gouvernent les propriétés d'encapsulation :

Ces systèmes sont gouvernés par plusieurs paramètres, on cite :

- Les paramètres externes tels que la température, le pH, la présence d'enzyme dans le milieu pouvant dégrader la particule, l'humidité [48-50].
- Les paramètres intrinsèques à la phase interne tels que la solubilité de l'espèce, sa température d'ébullition et de fusion.
- Les paramètres intrinsèques à la matrice ou à la membrane tels que la taille de la particule [51-54], l'épaisseur de la membrane, la structure chimique du polymère, sa masse moléculaire ainsi que la cristallinité et la porosité de la matrice [55,56].

1.2.5. Les formes matricielles :

Le terme matrice a été utilisé la première fois par WIEGAND et TAYLOR [57], pour désigner un système décrit par CABBELL et THEIVAGT. Il s'agissait d'une préparation à base d'un principe actif incorporé dans un plastique physiologiquement inerte [58].

En première approche, une matrice peut être définie comme étant une dispersion uniforme d'un principe actif dans un excipient. On l'oppose en général au système réservoir (à membrane). Cette définition reste simple et incomplète. C'est pour cette raison que d'autres informations complémentaires sont utiles pour mieux cerner la définition et la classification des matrices. Notamment la nature chimique du support qui forme le réseau de la matrice et qui peut être polymérique, lipidique ou minéral [59].

Le principe actif peut être dissous à l'état moléculaire ou dispersé à l'état particulaire dans le support matriciel. Il peut y avoir un équilibre entre ces deux états du principe actif dans des proportions dépendant de sa solubilité dans le support matriciel [59].

En ce qui concerne le comportement des matrices formées en contact avec le milieu, c'est leur résistance à la désagrégation qui semble en premier responsable de la prolongation de la libération du principe actif. Donc un système matriciel ne doit pas se désagréger. Par contre, son volume peut augmenter par gonflement en contact avec le milieu physiologique ou peut encore diminuer par érosion en fonction de la nature de l'agent matriciel [60].

Les matrices peuvent être destinées à toutes les voies principales d'administration. Mais c'est pour la voie orale qu'elles sont les plus utilisées. Le mode de libération du principe actif à partir de la matrice dépend de sa nature : il peut intervenir par diffusion, par érosion ou par gonflement. Il arrive aussi que deux mécanismes interviennent simultanément. Les matrices sont donc des supports constitués d'excipients physiologiquement tolérés, plus ou moins inertes et formant un réseau destiné à piéger le principe actif d'une manière uniforme et résistant à la désagrégation. Elles sont surtout monolithiques (comprimés, capsules), mais aussi multi-particulaires (granulés, mini-granules, microsphères et mini-comprimés) [60].

Les matrices sont caractérisées par la présence d'une dose unique du principe actif, l'effet initial étant obtenu par dissolution rapide du principe actif en surface. Sa libération se fait ensuite par épuisement progressif de la matrice [61].

1.2.5.1. Classification des matrices :

La classification des matrices peut se baser sur différents critères tels que leur structure, leur comportement dans les milieux ou au contact avec les liquides digestifs, le mécanisme de libération du principe actif, sa cinétique de libération ou encore la nature chimique et les propriétés des matériaux utilisés.

Brossard [62], propose une classification basée sur la nature de l'agent matriciel constituant le squelette de la matrice ainsi que sur le comportement de celle-ci au contact du milieu ou des liquides digestifs. Selon cette classification on peut distinguer trois grandes catégories de matrices : les matrices inertes renfermant les matrices minérales et les matrices plastiques, les matrices hydrophiles et les matrices érodables (matrices lipidiques et polymériques).

➤ *Les matrices inertes :*

Les matrices inertes, appelées également insolubles, sont constituées d'un support insoluble formant un réseau poreux dans lequel est dispersé le principe actif. Elles sont caractérisées par le fait qu'elles ne subissent pas de modification de forme lors du transit gastro-intestinal. Elles assurent une libération prolongée grâce à leur structure poreuse qui est un élément structurel de la forme galénique (squelette insoluble) et à un mécanisme de libération du principe actif indépendant des conditions extérieures et donc très peu influencé par les variables physiologiques. Il est possible de moduler la vitesse de libération en changeant simplement la structure poreuse de la matrice [63].

La libération du principe actif à partir de la matrice se fait d'abord par la libération plus ou moins importante d'une dose initiale de surface ensuite par l'épuisement graduel de la matrice en principe actif, elle peut être schématisée en trois étapes [63] :

- Pénétration par capillarité du fluide environnant ou des liquides digestifs à travers la poudre médicamenteuse dispersée dans le réseau poreux de la matrice.
- Dissolution progressive du principe actif.

- Diffusion lente de la solution vers l'extérieur le long des canalicules de la matrice poreuse. Cette dernière étape constitue le plus souvent l'étape contrôlant la cinétique de libération pour les matrices dites granulaires ou hétérogènes.

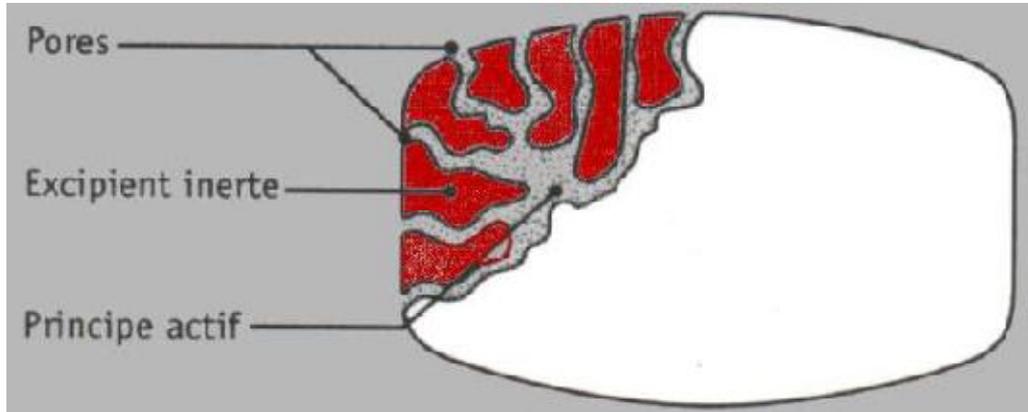


Figure 9 : Libération du principe actif à partir d'une matrice inerte [64].

Il est important de noter que la dose initiale de surface qui est libérée par dissolution rapide du principe actif est directement disponible, ce qui assure un début d'action immédiate. Ensuite, la libération se poursuit par dissolution et diffusion continues le long des canalicules à l'intérieure du support jusqu'à épuisement de la matrice. Elle devra donc conserver son intégrité tout au long du processus.

En fonction de la nature de l'excipient insoluble constituant le réseau poreux, deux types de matrices inertes peuvent être distingués : les matrices minérales et les matrices plastiques [62].

▪ **Les matrices minérales :**

Les matrices minérales d'emploi assez rare, sont généralement constituées d'un excipient pulvérulent d'origine minérale en forte proportion. Ce dernier assure l'inclusion du principe actif par durcissement au cours de la formation de la matrice.

Les matrices minérales sont composées d'au moins deux éléments structurels [64]:

1- Un excipient pulvérulent d'origine minérale qui représente l'agent matriciel : il peut s'agir par exemple de sulfate de calcium et de phosphate de calcium anhydres ou de talc. Ils donnent en présence d'eau un hydrate de consistance dure.

2- Un liant afin de permettre la formation du squelette de la matrice tel que l'éthylcellulose ou la polyvinylpyrrolidone. Ce liant permet la cohésion de la matrice. La technique de fabrication la plus employée des matrices minérales est la granulation par voie humide suivie de la compression.

▪ **Les matrices plastiques :**

Les matrices plastiques sont essentiellement composées de polymères thermoplastiques insolubles qui doivent répondre à des critères plus spécifiques. Ces polymères doivent être totalement inertes, non digestibles et insolubles dans les fluides du tractus gastro-intestinal. Ils doivent pouvoir former après compression une structure poreuse, mais cohérente et de plus ne pas présenter de toxicité. Parmi les polymères utilisés on peut citer :

- l'éthylcellulose.
- les copolymères méthacryliques.
- les chlorures et acétate de polyvinyle.

Les procédés de préparation des matrices plastiques ne font pas appel à des technologies particulières ; ce sont des technologies classiques de préparation des comprimés. Elles sont fabriquées le plus souvent par compression directe, effectuée après simple mélange du polymère avec le principe actif et les adjuvants de fabrication, ou encore par granulation par voie humide quand la compression directe n'est pas possible [64].

➤ **Les matrices hydrophiles :**

Les matrices hydrophiles sont des comprimés à libération prolongée constitués du mélange d'un ou de plusieurs principes actifs avec un agent gélifiant. Elles se distinguent donc des précédentes par le fait qu'elles gonflent après hydratation par les liquides digestifs en raison de la présence du polymère hydrophile doué de propriétés gélifiantes.

Au contact de l'eau ou des liquides digestifs, une fraction du principe actif est rapidement dissoute. Puis le polymère se hydrate et se gélifie en formant une couche visqueuse à travers laquelle l'eau continue à pénétrer dans la matrice. Au fur et à mesure du processus de hydratation, la matrice augmente de dimension et traverse le tractus gastro-intestinal sans se

désagréger. La barrière gélifiée formée contrôle la pénétration de l'eau de l'extérieur vers l'intérieur et s'oppose à la libération rapide du principe actif qui est libéré par diffusion après sa dissolution [64].

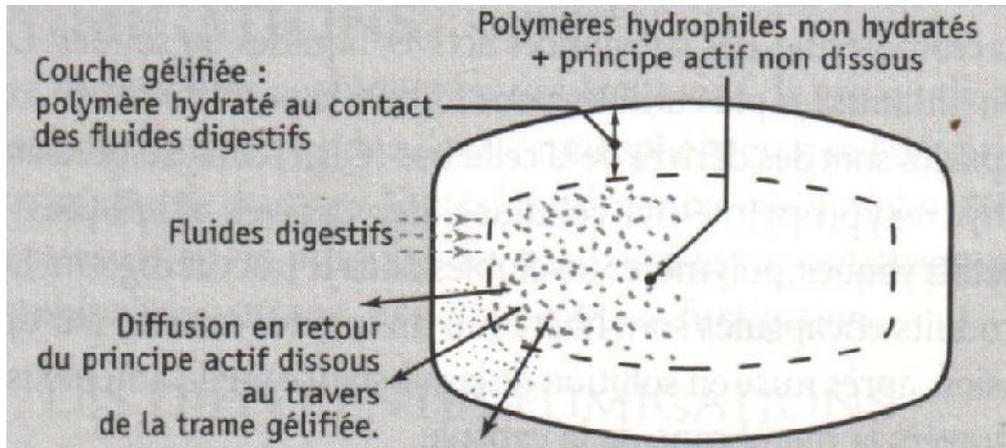


Figure 10 : Représentation d'une matrice hydrophile : Mécanisme de libération du principe actif [64].

➤ *Les Matrices érodables :*

Les matrices érodables se différencient des matrices inertes et hydrophiles par le simple fait qu'elles subissent une certaine érosion lors de leur transit gastro-intestinal. Cette érosion est due à la composition de la matrice, c'est-à-dire la nature de l'agent matriciel qui subit l'action des enzymes et/ou du pH des sucs digestifs [64].

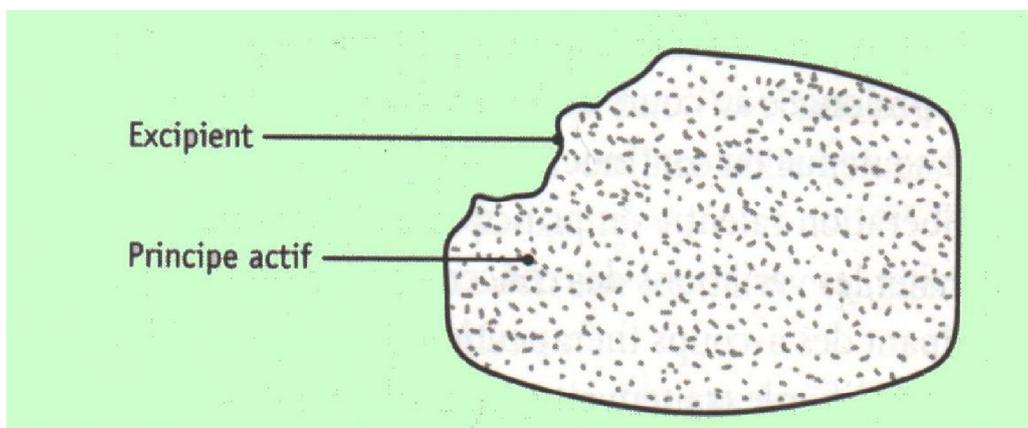


Figure 11 : Matrice érodable (libération par érosion du principe actif) [64].

On distingue deux catégories : les matrices lipidiques et les matrices polymériques.

- ***Les matrices lipidiques :***

Les matrices lipidiques, appelées aussi matrices hydrophobes ou encore cireuses, sont des matrices constituées de corps gras qui subissent une érosion lente due à l'action des lipases pancréatiques. La libération du principe actif à partir de la matrice dépend de la composition enzymatique des liquides digestifs. La nature des corps gras constituant la matrice, peut aussi avoir une influence sur la vitesse et le lieu de l'érosion. Les différentes substances lipidiques utilisées sont surtout les glycérides et les acides gras [64].

- ***Les matrices polymériques :***

Celles-ci sont élaborées par des polymères qui permettent d'obtenir des matrices à érosion lente et peu sensibles aux variations de pH des liquides digestifs. Les principaux polymères gastro-résistants employés sont l'acétylphtalate de cellulose, les phtalates de l'hydroxypropylméthylcellulose et les copolymères méthacryliques [64].

Partie 3 : Vectorisation de la métformine

I.3.1. Metformine :

La metformine (diméthylbiguanide) est utilisée depuis 1957 comme agent antidiabétique. Elle est indiquée en première intention dans le traitement du diabète de type 2, en particulier en cas de surcharge pondérale (excès de poids), et que le régime alimentaire et l'exercice physique ne sont pas suffisants pour rétablir l'équilibre glycémique [65].

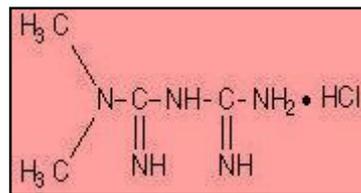


Figure 12 : structure chimique du Chlorhydrate de metformine [65].

L'absorption intestinale de la metformine est incomplète (70 à 80 % de la dose ingérée). Elle ne se lie pas aux protéines plasmatiques et elle est éliminée par voie rénale sous forme inchangée [65].

Les mécanismes d'action de la metformine demeurent encore incertains à ce jour. Après son administration, une réduction de la production hépatique de glucose est remarquée, elle agit principalement sur la voie de la néoglucogenèse (synthèse de glucose à partir d'éléments non-glucidiques comme l'acide lactique) et l'augmentation de l'utilisation périphérique du glucose [65].

I.3.2. Diabète :

I.3.2.1. Définition du diabète sucré :

Le diabète sucré est caractérisé par une hyperglycémie chronique due soit à un défaut de sécrétion d'insuline, soit à un défaut d'action de l'insuline, soit à la combinaison des deux. L'insuline est l'agent hypoglycémiant le plus puissant. C'est une hormone peptidique sécrétée par les cellules des îlots de Langerhans du pancréas. Elle inhibe la néoglucogenèse hépatique (production de glucose par le foie), et favorise la glycogenèse (stockage du glucose sous forme de glycogène) et le transport de glucose dans le foie et le muscle.

L'hyperglycémie résultante occasionne à long terme des complications touchant de nombreux organes : les yeux, les reins, ainsi que le système nerveux et l'appareil cardiovasculaire [66].

Selon les recommandations de l'OMS, le diabète est défini par :

- Une glycémie à jeun supérieure à 7 mmol/l (1,26 g/l) mesurée consécutivement à deux reprises.
- Ou, une glycémie supérieure à 11,1 mmol/l (2 g/l) à n'importe quel moment de la journée.

1.3.2.2. Classification des diabètes sucrés :

La nomenclature internationale distingue deux principaux types de diabète [67]: le diabète de type 1, anciennement appelé diabète insulino-dépendant et le diabète de type 2, appelé aussi diabète non insulino-dépendant.

Outre ces deux formes majeures, il existe le diabète gestationnel (qui touche les femmes enceintes), ainsi qu'une catégorie regroupant tous les autres cas de diabète (résultants des anomalies touchant les voies métaboliques par exemple) ne pouvant pas être classés ni dans le type 1, ni dans le type 2 [68,69].

➤ *Diabète de type 1 :*

Le diabète sucré de type 1 résulte d'une insuffisance totale en insuline liée à la destruction de la plupart des cellules sécrétrices d'insuline du pancréas. Cette maladie est donc liée à une destruction auto-immune des cellules β (cellules insulino-sécrétrices) des îlots de Langerhans du pancréas. Le processus auto-immun responsable de la déficience pancréatique commence plusieurs années avant l'apparition de l'hyperglycémie, et les symptômes se manifestent lorsque environ 80% des cellules β ont été détruites [70,71]. Il apparaît le plus souvent chez l'enfant et l'adolescent et des cas chez l'adulte sont cependant de plus en plus décrits [72].

➤ **Diabète de type 2 :**

Il représente plus de 80% des cas de diabète, et il est essentiellement rencontré chez l'adulte. Le risque d'en être atteint augmente avec l'âge. Il est causé à la fois par une résistance de l'organisme à l'action de l'insuline (insulinorésistance) et par une diminution de l'insulinosécrétion pancréatique. Il est lié à certains facteurs génétiques, environnementaux comme le manque d'exercice ou l'obésité [73-75]. Dans ce cas, la metformine intervient en :

- Diminuant la production hépatique du glucose (inhibition de la néoglucogénèse et de la glycogénolyse).
- Favorisant la capture et l'utilisation périphérique du glucose principalement au niveau musculaire (augmente la sensibilité à l'insuline)
- Retardant l'absorption intestinale du glucose [76].

I.3.3. Avantages et inconvénients de la metformine :

Selon une revue systématique de la littérature parue en 2007 [77], comparant l'efficacité et la sécurité des antidiabétiques oraux, il a été mis en évidence qu'en monothérapie, la metformine est le seul antidiabétique oral à avoir un effet bénéfique sur les complications cardiovasculaires. Elle réduit le taux de cholestérol et des triglycérides dans le sang et n'induit pas de prise pondérale. Concernant les effets secondaires, la metformine produit jusqu'à 63% de troubles gastro-intestinaux (nausées, ballonnements, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et perte d'appétit). Par ailleurs, elle diminue d'environ 30% l'absorption de la vitamine B₁₂. Le risque d'hypoglycémie est quasiment négligeable, et celui d'acidose lactique est très faible. Les contre-indications à la metformine sont l'insuffisance rénale et hépatique, l'insuffisance cardiaque et respiratoire [77].

La vectorisation de la métformine est réalisée dans le but de réduire sa dose journalière et prolonger sa libération dans l'organisme afin de diminuer ses effets secondaires.

La libération prolongée d'un principe actif est celle pour laquelle la dose totale est retenue au sein d'un système contrôlant sa vitesse de libération. La rétention du principe actif peut être faite par son inclusion dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une espèce de matrice à partir de laquelle le principe actif sera libéré lentement. La libération prolongée est basée sur deux principes :

- La vitesse de libération du principe actif à partir de la forme galénique est plus lente que dans le cas de libération conventionnelle.

- La durée de cette libération est étalée dans le temps.

La libération prolongée présente plusieurs avantages comme la réduction des prises journalières, l'amélioration du confort du malade et la diminution des effets secondaires indésirables [78].

II.1. Polycaprolactone (PCL) :

Le PCL qui désigne le polycaprolactone, est un polymère aliphatique synthétique appartenant à la famille des polyesters. Ces derniers représentent un sous groupe de la famille des biopolymères obtenus des ressources fossiles, ils répondent aux normes sur la biodégradabilité dont certains ont obtenu les labels de " biodegradables" car ils renferment des liaisons facilement hydrolysables sous l'action des micro-organismes [79].

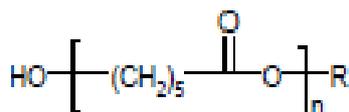


Figure 13: Structure chimique du polycaprolactone [80].

II.2. Mécanisme d'obtention du PCL :

Ce polyester est obtenu suite à une polymérisation par ouverture de cycle du monomère caprolactone (la fonction ester est engagée dans un cycle) en présence d'initiateurs. Le principe consiste à rompre la liaison carbone (cétone)-hétéroatome (C-O) pour permettre au cycle de se déployer afin de suivre une série de propagation et aboutir à la formation du polymère [80]. Le monomère est essentiellement produit par synthèse chimique bien qu'il puisse également être obtenu par voie microbienne [81].

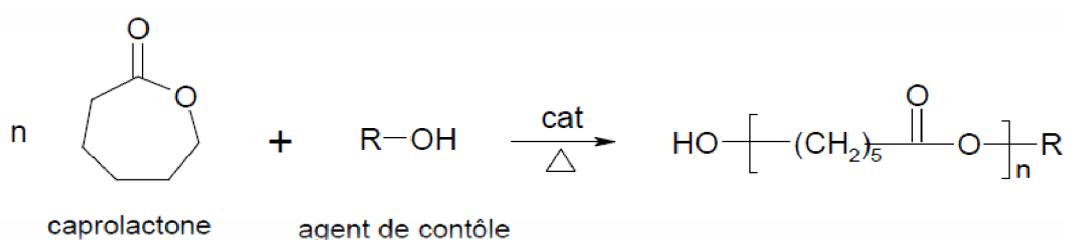


Figure 14 : Polymérisation de la ϵ -caprolactone [81].

Cette réaction est généralement catalysée par différents systèmes d'amorçage (initiateurs). On y retrouve les catalyseurs à base de métaux, les catalyseurs organiques et les systèmes enzymatiques.

II.2.1. Les catalyseurs métalliques :

Parmi les métaux utilisés, on retrouve les catalyseurs à base de lithium sodium et potassium. D'autres études se sont portées principalement sur les amorceurs à base de calcium et de magnésium pour leur faible toxicité et leur forte activité catalytique [82].

II.2.2. Les catalyseurs organiques et les systèmes enzymatiques :

La polymérisation de l' ϵ -caprolactone peut aussi se produire dans des conditions ne faisant intervenir aucun métal. Dans la plupart des réactions organiques, le catalyseur est impliqué dans une activation de monomère en présence d'un alcool. Ainsi, des travaux ont été publiés sur l'utilisation de composés azotés d'acides carboxyliques ou encore d'acides aminés qui ont montré leurs efficacités en polymérisation de l' ϵ -caprolactone. Les catalyseurs organiques sont récupérés après précipitation du polymère dans de l'alcool, suivie d'une filtration et d'une évaporation du solvant. La polymérisation par les acides forts comme l'acide chlorhydrique ou les acides sulfoniques a été également établie [83, 84].

Quant à la voie enzymatique, la réaction est du même type qu'en voie organique : activation du monomère puis réaction avec l'alcool présent. Les enzymes utilisées sont généralement des lipases mises dans différentes conditions expérimentales dont le solvant est un élément déterminant pour la polymérisation [85].

Le PCL est l'un des plus promettant des polymères biodégradables, car il est dégradé dans un milieu aqueux ou en contact avec les microorganismes et il peut être utilisé pour la fabrication des articles compostables. Il a également une bonne résistance mécanique avec une très grande flexibilité. Il est produit principalement par Solvay (Belgique) sous le nom commercial Capa® et par Union Carbide (USA) sous le nom Tone®, cependant, le coût élevé de la PCL a empêché l'utilisation industrielle généralisée de ce dernier [86,87].

II.3. Propriétés physico-chimiques du PCL:

Les principales propriétés physico-chimiques du polycaprolactone sont récapitulées dans le tableau ci dessous:

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques de la polycaprolactone [88] .

Caractéristique	Valeur
Masse moléculaire (g/mol)	20000 jusqu'à 100000
densité	1,11
Point de fusion C°	55- 65
Température de décomposition °C	300- 350
Température de transition vitreuse C°	-55, -61
Cristallinité(%)	67 - 68
Résistance (MPa)	26-42
Module DøYoung (MPa)	190
Elongation à la rupture (%)	> 500
Contrainte à la rupture ou max (MPa)	14

II.3.1. Cristallinité du PCL:

Le PCL est semi-cristallin avec un degré de cristallinité pouvant atteindre 69% [89], il est appelé: polymères à cristaux liquides.

L'état cristal liquide est un état intermédiaire entre l'état cristallin, très organisé, et l'état liquide désorganisé. Les molécules conservent des interactions fortes les unes avec les autres.

Les polymères à cristaux liquides comme le PCL présente la particularité d'être constitués de molécules capables de s'orienter les unes par rapport aux autres, ce qui leur confère des propriétés remarquables et leur permet de satisfaire des applications très contraignantes. On distingue deux grands types parmi ces polymères : les plus répandus

possèdent la structure cristal liquide dans la chaîne principale, alors que ceux de la seconde catégorie contiennent le cristal liquide dans des chaînes latérales [90].

Il est formé de macromolécules rigides, en bâtonnets, qui s'alignent lors de la fusion pour produire des structures à cristaux liquides. Sous l'effet des contraintes subies lors du moulage, ces bâtonnets s'orientent et s'ordonnent ce qui permet d'améliorer les propriétés mécaniques du polymère dans le sens de l'écoulement de la matière. Cette orientation est d'autant plus importante que l'épaisseur du matériau est faible. En raison de la très faible viscosité de ces matériaux, il est possible de mouler des épaisseurs aussi faibles que 0.2 mm. La rigidité de ces polymères est nettement plus élevée dans le sens de l'écoulement que dans le sens transversal [90].

II.3.2.Solubilité du PCL :

Le PCL est un matériau hydrophobe, insoluble dans les alcools, les éthers de pétrole et l'eau et facilement soluble dans les solvants organiques tels que le chloroforme, le dichlorométhane, le tétrachlorure de carbone, le benzène, le toluène, le 2-butanone et l'acétate d'éthyle [91,92].

II.3.3.Dégradation du PCL :

Suivant son poids moléculaire, son degré de cristallinité et les conditions extérieures, le PCL se dégrade entre quelques mois et quelques années, Il résiste très bien à la chaleur et peut être utilisé en continu jusqu'à 250 °C à 300 °C avec des pics pouvant atteindre 350 °C. [90].

De plus, de nombreux organismes microscopiques sont capables de le dégrader biologiquement. La dégradation intervient premièrement au niveau de la phase amorphe du polymère, ce qui induit une augmentation du caractère cristallin alors que le poids moléculaire reste constant, c'est la rupture des liaisons esters qui entraîne la perte en masse [93].

Le PCL peut aussi être attaqué par voie enzymatique dans l'environnement. In vivo et sous l'action des lipases, il subit une dégradation très lente (un à deux ans) à cause de son caractère hydrophobe [93].

Sa stabilité dimensionnelle est très bonne, tout comme son comportement aux chocs à basses ou hautes températures (-50 °C / + 250 °C). Il présente par ailleurs une très bonne résistance aux produits chimiques et à l'oxydation [93].

II.4. Domaine d'application du PCL:

Le PCL le plus développé est à base de polyester aromatique. Les PCL sont notamment utilisés dans la fabrication de composants électriques et électroniques, de connecteurs pour les fibres optiques, d'appareils de télécommunication, de machines de traitement pour les produits chimiques, ainsi que dans l'industrie automobile et la construction mécanique. Ils remplacent, pour certaines pièces, les alliages de métaux légers ou les thermodurcissables [90] et l'emballage [94].

Actuellement, ce matériau est exploité dans le domaine de la technologie biomédicale et pharmaceutique, où il est utilisé pour la préparation des dispositifs implantables à long terme [95], dans les dispositifs de fixation orthopédique et dans la vectorisation et la libération contrôlée des principes actifs sous forme de microparticules ou de nanoparticules [96, 97].

II.5. Toxicité du PCL dans le domaine thérapeutique:

Selon Emmanuel Landreau et coll, le PCL ne représente pas de toxicité thérapeutique et il est destiné à remplacer plusieurs matériaux dont leur toxicité est révélée significative [98,99].

III.1. Polyéthylène glycol (PEG) :

Le polyéthylène glycol est un polymère linéaire appartenant à la famille des polyéthers, c'est un matériau neutre de formule chimique: $H-(O-CH_2-CH_2)_n-OH$ (Figure 3) composé d'oxyde d'éthylène avec un groupement hydroxyle terminal. Il est synthétisé par polymérisation anionique d'oxyde d'éthylène [100].

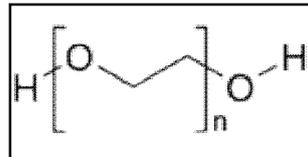


Figure 15: structure chimique du polyéthylène glycol [101].

III.2. Synthèse du PEG :

L'oxyde d'éthylène, molécule très réactive à l'origine de la synthèse des PEG, est obtenue par réaction entre l'éthylène et l'oxygène. La polymérisation catalysée par le sodium aboutit à la formation de chaînes de PEG plus ou moins longues selon la durée de la réaction [102].

La masse moléculaire de ce composé varie en fonction du nombre de groupement d'oxyde d'éthylène, en général elle est comprise entre 400 et 25000 g/mol. Si la masse moléculaire dépasse 25000 g/mol, ce polymère dans ce cas est désigné par le non : poly(oxyde d'éthylène) (PEO) [102].

III.3. Propriétés physicochimiques du PEG:

À température ambiante, le PEG est un liquide visqueux incolore lorsqu'il a une masse moléculaire inférieure à $600 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ et un solide cireux lorsque sa masse moléculaire est supérieur à $800 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Le PEG liquide est miscible en toute proportion avec l'eau tandis que le PEG solide est hautement soluble dans l'eau et il peut dissoudre des sels inorganiques divers par complexations. De plus, la viscosité du PEG diminue lorsque la température augmente. Pour le PEG-6000, la température de fusion se situe vers $56\text{ à }63 \text{ }^\circ\text{C}$, sa température d'ébullition est de $250\text{ }^\circ\text{C}$ et sa température d'auto-inflammation est d'environ $360 \text{ }^\circ\text{C}$ [103].

III.3.1.Solubilité du PEG :

La structure du polyéthylène glycol lui confère un caractère amphiphile, ainsi on le trouve soluble dans des phases organiques et des phases aqueuses. Il est soluble dans un grand nombre de solvants organiques comme le dichlorométhane, le chloroforme, le diméthylformamide, le toluène mais il reste insoluble dans l'hexane, le diéthyléther et le tert-butylméthyléther, l'éthanol à froid, l'isopropanol et l'acétate d'éthyle à froid. Ces derniers peuvent d'ailleurs être employés comme précipitants du PEG [101].

En phase aqueuse et à température ambiante, le PEG possède une forte capacité de liaison à l'eau, ses chaînes sont fortement hydratées, chaque monomère peut lier deux à trois molécules d'eau ce qui est à l'origine des propriétés osmotiques du PEG en solution, cependant cette solubilité diminue avec l'augmentation de la température [102].

Ce phénomène est dû à la désolvation des chaînes du PEG. En effet, à température ambiante les motifs éthylène glycol sont complètement solvatés par les molécules d'eau par l'intermédiaire d'interactions faibles telles que les liaisons hydrogène. Le fait de chauffer permet de rompre ces interactions et donc d'éliminer la couche de molécules d'eau responsable de la solvation. Le polymère devient alors totalement insoluble et précipite. Cette précipitation, si elle est thermoréversible, peut être intéressante pour des applications de dépollution où un polluant, après avoir migré vers les cours hydrophobes des objets en solution, peut être éliminé par simple précipitation de ces derniers [102].

III.3.2.Dégradation du PEG:

Plusieurs tests de biodégradation ont été réalisés sur des poly(éthylène glycol) de différentes masses molaires [400-20000] g/mol . Les résultats obtenus ont mis en évidence la biodégradabilité de ce polymère malgré une large diversité des masses molaires, dans des conditions aérobiques et même anaérobiques. Cependant, la biodégradation du PEG dans le milieu anaérobique est plus lente [104].

III.4. Domaine d'application du PEG:

Le PEG est aujourd'hui très utilisé, en effet des milliers de tonnes sont fabriquées chaque année à travers le monde pour répondre à la demande du marché. Etant à la fois hydrosoluble, biodégradable et surtout biocompatible, ce polymère trouve de multiples applications dans le domaine thérapeutique.

Dès 1977, le PEG a été décrit comme un matériau limitant le gonflement cellulaire et donc l'entrée d'eau dans la cellule, phénomène induit lors de la conservation de coupes de tissus cardiaques de rat. La présence de PEG 8 000 Da (8kDa) supprime également le gonflement cellulaire de hépatocytes isolés à parti de foie de rat et diminue de moitié la mort cellulaire induite par 24h de conservation hypothermique [105].

L'effet du PEG est démontré aussi dans la conservation du foie, rein, poumon et pancréas dans les modèles expérimentaux et les essais cliniques. Les travaux de Daniel et Wakerley en 1976 montrent que la présence de PEG 20 000 Da (20kDa) au cours de la conservation hypothermique conserve la viabilité cellulaire dans des cultures primaires de cellules rénales porcines. L'efficacité du PEG dans les solutions de conservation a également été testée en transplantation rénale [105].

Aussi, des activités anti-oxydantes ont été également décrites pour le PEG, et plus particulièrement pour le PEG 8kDa dans un modèle de conservation de hépatocytes de rat. Ainsi, dans ce modèle, l'addition de polymère à la solution de conservation renforce la diminution de la peroxydation lipidique. Ils ont donc supposé que la diminution du stress oxydant observée en présence de PEG est peut être liée à la protection apportée par ce polymère contre les dommages tissulaires induits par la conservation hypothermique [106].

Son rôle en immunocamouflage est apprécié par les chercheurs en médecine. En 1998, Scott et coll. ont proposés une hypothèse d'adsorption du PEG en surface cellulaire permettant d'expliquer l'interaction PEG-protéine. Puis en 2004, Eugène et coll. ont adapté cette hypothèse à la transplantation et ont défini la théorie de l'« immunocamouflage » qui repose sur la modification de la surface membranaire des cellules apportée par les molécules de PEG. Ces dernières créent une barrière physique qui peut alors minimiser la

reconnaissance des sites antigéniques de la membrane cellulaire du greffon par le système immunitaire du receveur [106].

D'ailleurs, dans les années 1970, de nombreux travaux ont souligné qu'une modification chimique de certains antigènes réduit leur pouvoir antigénique et donc leur capacité à induire une réponse immunitaire. Ainsi, en 1977, Abuchowski et coll. montrent que la liaison covalente entre la catalase hépatique d'origine bovine et la monométhoxyPEG (mPEG : PEG enrichi d'un groupement méthyle à une extrémité afin de linéariser la molécule, aux tailles de 1 900 et 5 000 Da) n'induit pas de réponse immunitaire chez les lapins immunisés en présence de ces antigènes modifiés [106].

Actuellement et vu ses caractéristiques, le PEG est l'un des polymères les plus utilisés pour la vectorisation des molécules biologiquement actives. En plus de ces propriétés thérapeutiques, le polyéthylène glycol, en combinaison avec d'autres substances, est utilisé souvent comme émulsifiant, humectant et tensioactif. Aussi, il est inclus dans la fabrication des produits de beauté comme épaississant, solvant, adoucissant, et excipient d'humidité [107].

III.5. Toxicité liée au PEG :

La toxicité du PEG est très faible et diminue d'autant plus que le poids moléculaire est élevé. Le PEG de hauts poids moléculaires ont une DL50 supérieure à 50g/kg chez le rat. Chez l'homme, il y a peu de rapports sur des effets secondaires à la consommation de PEG. Un cas de réaction anaphylactique possible a été reporté ainsi qu'un cas de réaction d'urticaire [108].

Selon les processus de fabrication, les PEG destinés à l'utilisation dans les produits cosmétiques peuvent contenir du 1,4-dioxane en quantités mesurables. Le Centre International de Recherche sur le Cancer classe le 1,4-dioxane comme agent cancérigène potentiel et il est aussi persistant (c'est-à-dire qu'il ne se dégrade pas bien et persiste dans l'environnement après avoir été évacué dans les canalisations de douche). Le 1,4-dioxane peut être éliminé des produits de beauté durant leur fabrication [109].

IV.1.Introduction :

Ce chapitre a pour objectif de présenter les matières premières employées et les diverses techniques expérimentales de caractérisations à savoir l'analyse calorimétrique différentielle (DSC), la spectroscopie infrarouge, la diffraction des rayons X (DRX) et la microscopie électronique à balayage (MEB) utilisés dans le cadre de cette étude.

Il comprend ainsi le protocole expérimental d'élaboration des comprimés de chlorhydrate de metformine à différents pourcentages du polyéthylène glycol et également la cinétique de relargage de ce principe actif dans le milieu physiologique à travers la matrice PCL/PEG.

Dans cette étude, on désigne le terme mélange :la matrice polymérique PCL/PEG sans le principe actif et par le mot formulation, le mélange des deux polymères avec le chlorhydrate de metformine.

IV.2.Matières premières utilisées :**IV.2.1.Polycaprolactone (PCL) :**

La masse moléculaire du polycaprolactone utilisé au cours de la préparation des échantillons est égale à 80 000 g/mol et son point de fusion varie de 58 à 60 °C. Ce polymère est commercialisé par la société Solvay sous le nom commercial de «*Capa® 6800*».

IV.2.2.Polyéthylène glycol (PEG) :

On a utilisé le polyéthylène glycol sous forme de cristaux blancs fabriqués par BIOCHEM Chemopharma (Quebec) de masse moléculaire 6000g/mol et de pH égale à 4 pour une solution de 50g/l à 25°C.

IV.2.3.Chlorhydrate de metformine :

Ce principe actif nous a été offert gracieusement par l'unité Pharmal DAR EL BAIDA d'Alger. Cet antidiabétique oral de classe des biguanides est sous forme d'une poudre blanche cristalline, soluble dans l'eau et l'alcool à 95% et insoluble dans l'éther et le chloroforme. Sa masse molaire vaut 165.6 g/mol et son point de fusion varie de 218 à 220 °C [110].

IV.3. Élaboration du mélange PCL/PEG :

Le mélange des deux polymères polycaprolactone et polyéthylène glycol est préparé par le procédé d'extrusion.

IV.3.1. L'extrusion :

L'extrusion est un procédé de fabrication (thermo) mécanique par lequel un matériau bien mélangé et compressé est contraint de traverser une filière ayant la section de la pièce à obtenir. On forme, en continu, un produit long (tube, tuyau, profilé, fibre textile) et plat (plaque, feuille, film). Elle s'applique à divers produits tels les métaux, les matières plastiques, les caoutchoucs, les matériaux composites, les pâtes alimentaires, et également dans le domaine pharmaceutiques pour l'encapsulation des principes actifs et la fabrication des médicaments [111].

Dans le cas d'une production par cette méthode, les produits (initialement sous forme de poudre, flocons, paillettes, granulés ou fibres) sont préchauffés avant d'être introduits en amont d'une vis extrudeuse qui permet de disperser la charge dans la matrice et d'effectuer ainsi un mélange intime entre les constituants. En particulier, lorsque plusieurs polymères sont utilisés, il ne faut pas que l'un d'eux soit thermiquement dégradé tandis que d'autres ne sont pas fondus. En outre, les contraintes de cisaillement doivent être choisies pour disperser parfaitement la charge dans la matrice et éviter les points de concentration de charge résultant de l'agglomération de celle-ci. Enfin, se pose également le problème de compatibilité d'interface entre les constituants. Pour pallier ce problème, des agents couplants peuvent être introduits afin de modifier les charges de surface et améliorer l'adhésion [112].

IV.3.2. Présentation de l'extrudeuse :

L'extrudeuse que l'on a employée pour la préparation des échantillons est de type 5&15 Micro compounder DSM Xplore, modèle 2005, représenté sur la figure 16.



Figure 16 : L'extrudeuse de type 5&15 Micro compounder DSM Xplore, modèle 2005.

IV.3.3.Mode opératoire :

Les deux polymères utilisés ont été mélangés dans les conditions suivantes : 100°C est la température du fourreau, le temps d'injection était de 2 seconde, la vitesse de rotation des visse est égale à 50 t/min et le temps de séjour de ce mélange dans le fourreau était de 8 mn.

Ensuite se mélange a subi une pression de 5 bar sous refroidissement pour lui donné la forme de bâtonnets.

Les proportions utilisées en PCL et PEG sont regroupées dans le tableau ci dessous:

Tableau 3 : Proportion des différents constituants des mélanges obtenus.

<i>Mélange</i>	<i>M0</i>	<i>M40</i>	<i>M50</i>	<i>M60</i>
<i>PCL (%)</i>	100	60	50	40
<i>PEG (%)</i>	0	40	50	60

IV.4. Élaboration des formulations :

L'incorporation de chlorhydrate de metformine dans le mélange PCL /PEG a été effectué par la même voie mécanique.

IV.4.1.Mode opératoire :

Dans le fourreau, après avoir réglé la température à 100°C on a introduit en premier le PCL suivi du PEG, ensuite le chlorhydrate de metformine est ajouté. La vitesse de rotation était réglée à 50 Rpm et le temps de séjour de ce mélange dans le fourreau était de 20 mn. Les extrudats ont été récupéré sous pression de 5bar.

Les formulations élaborées à différents pourcentages du polycaprolactone (PCL) et du polyéthylène glycol (PEG) sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4: Proportion des différents constituants des formulations obtenus

<i>Formulation</i>	<i>F0</i>	<i>F20</i>	<i>F25</i>	<i>F30</i>
<i>PCL (%)</i>	50	30	25	20
<i>PEG (%)</i>	0	20	25	30
<i>Metformine (%)</i>	50	50	50	50

➤ *Broyage et tamisage des extrudats :*

Dans un appareillage de type Retsch, les extrudats obtenus ont subi un broyage et tamisage afin d'avoir des granulés de diamètre 2 et 0.5 mm.

IV.5. Techniques de caractérisation des échantillons :

IV.5.1. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) :

C'est une technique d'analyse thermique qui mesure les différences des échanges de chaleur entre un échantillon à analyser et une référence. La présence d'une transition vitreuse en DSC indique une structure amorphe, alors que la présence d'un pic endothermique de fusion révèle la structure cristalline de l'échantillon. Elle permet de déterminer les transitions de phase :

- la température de transition vitreuse (T_g) des polymères.
- les températures de fusion et de cristallisation .

IV.5.2. Diffraction des rayons X :

Les mesures de diffraction des rayons X ont été effectuées sur un appareil de type expert prof Panalytical, model vertical de longueur d'onde $\lambda = 1.5405$ nm.

La diffraction des rayons X est l'une des méthodes d'analyses physicochimiques exploitées dans la caractérisation des réseaux cristallins. Les rayons X, comme toutes les ondes électromagnétiques, provoquent un déplacement du nuage électronique par rapport au noyau dans les atomes ; ces oscillations induites provoquent une réémission d'ondes électromagnétiques de même fréquence . Selon la direction de l'espace, on va donc avoir un flux important de photons X, ou au contraire très faible ; ces variations selon les directions forment le phénomène de diffraction X. En utilisant la loi de Bragg, on pourra déterminer la distance réticulaire (inter-feuillets) « d » séparant les plans de diffraction (figure 17) [113].

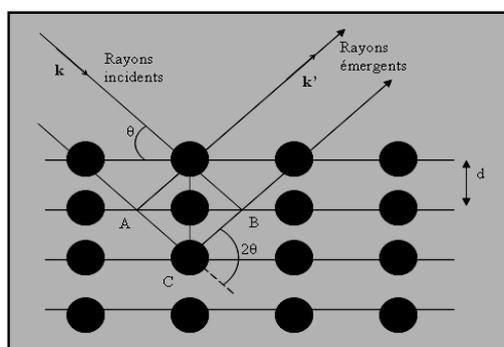


Figure 17. Réflexion des rayons X par une famille de plans réticulaires [113].

$$2d \sin \theta = n \lambda \quad [113].$$

Où :

- d = distance interréticulaire (distance entre deux plans cristallographiques).
- θ = demi-angle de déviation (moitié de l'angle entre le faisceau incident et la direction du détecteur).
- n = ordre de réflexion (nombre entier).
- λ = longueur d'onde des rayons X.

IV.5.3. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier :

Des pastilles préparées, par compresse de marque SHIMADZU, en mélangeant 0.5mg des granulés de chaque échantillon avec 16.7 de KBr, ont été analysées par un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de type : IR Affinity-1 SHIMADZU. L'infrarouge analytique met à profit la plage des radiations électromagnétiques comprise entre 400 cm^{-1} à 4000 cm^{-1}

L'analyse des spectres IR nous renseigne sur les principales fonctions chimiques que possède le matériau, ils sont divisés en trois régions principales :

- 4000 cm^{-1} à 1500 cm^{-1} : contient des bandes d'allongement correspondant aux principaux groupements OH, CO, NH_2 ...
- 1500 cm^{-1} à 1000 cm^{-1} : C'est une bande complexe appelé parfois " empreinte digitale " du composé dans laquelle se situe de nombreuses vibration de déformation ainsi que des bandes d'allongement des liaisons CO tel que les esters, éthers et alcool.
- 1000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} : C'est une bande très utilisé pour la détermination des structures éthylique et aromatique grâce à la déformation en dehors du plan des liaisons CH et à des déformations du cycle [113].

Il est intéressant d'exploiter cette méthode d'analyse qui pourra nous dévoiler la présence et le type d'interaction établie entre les constituants du mélange effectué et cela à travers l'apparition de nouveaux pics d'absorptions.

IV.5.4. Caractérisation par Microscope Electronique à Balayage (MEB) :

Le principe du balayage consiste à explorer la surface de l'échantillon par un faisceau d'électrons très fin qui balaie point par point la surface de ce dernier. Sous l'impact de ce faisceau d'électrons accélérés, des électrons rétrodiffusés et des électrons secondaires émis par l'échantillon sont recueillis sélectivement par des détecteurs qui transmettent un signal à un écran cathodique dont le balayage est exactement synchronisé avec le balayage de l'objet. Cette technique nous permis d'avoir des renseignements sur la topographie, la morphologie et la composition de l'échantillon. L'appareillage utilisé est le microscope électronique à balayage environnemental de type quanta FEG 600 [113].

IV.6. Cinétique de relargage du principe actif :

IV.6.1. Préparation des pastilles :

A l'aide d'une pastilleuse de type Specac, des comprimés de 40 mg des quatre formulations à diamètre 2 mm et 0.5 mm ont été soigneusement préparées sous une pression de 10 bars pour une période de 10 min.

Pour éviter toute contamination d'humidité et de poussière, cette préparation s'est effectué juste avant le test de la dissolution.

IV.6.2. Préparation du milieu physiologique :

Le milieu physiologique a été formé on faisant dissoudre 2.04g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) dans une fiole contenant 3 litres d'eau distillée. Sous une agitation magnétique, le pH de cette solution est ajusté à 6.8 par l'ajout d'une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0.1N). Le pH : 6.8 représente le pH du compartiment intestinal.

IV.6.3. Essais de dissolution et mesure de la densité optique :

IV.6.3.1. Description du dissolu test :

Cet appareil nous a servi à suivre la cinétique de libération du chlorhydrate de metformine à travers la matrice PCL/PEG dans le milieu physiologique qu'on a préparé. Il est de marque Pharma test (Germany) comportant 8 bacs à fond hémisphériques d'une capacité

de 900 ml chacun. Ces bacs sont placés dans un bain d'eau thermostaté et contenant chacun un agitateur dont le rôle est l'agitation et l'homogénéisation du milieu physiologique.

IV.6.3.2. Le protocole expérimental du test de dissolution :

Après l'introduction de 900 ml du milieu physiologique dans les bacs du dissolu test, on a ajusté l'agitation à 75 tours/min et la température à 37 °C. Une fois cette dernière est atteint, la formulation, préalablement préparée sous forme de comprimé, est introduite dans ce milieu en déclenchant le chronomètre puis des prélèvements de 5 ml ont été effectués à l'aide d'une seringue à des temps donnés pendant six heures et analysés par UV-visible à une longueur d'onde de 233 nm.

L'UV-visible utilisé est de type SpectroScan 50, le principe de cette technique repose sur l'absorption des radiations lumineuses par les molécules d'une solution diluée. Le domaine UV-visible s'étend environ de 800 à 10 nm :

- Visible: 800 nm (rouge) - 400 nm (indigo).
- Proche-UV : 400 nm - 200 nm.
- UV-lointain : 200 nm - 10 nm.

Dans notre cas, nous avons utilisé la gamme des longueurs d'ondes qui va de 300 à 200nm (proche-UV) et comprend la longueur d'onde de notre principe actif qu'on a dosé suivant la loi de Beer-Lambert dont la concentration est proportionnelle à l'absorbance de ce dernier. Ainsi une courbe d'étalonnage a été tracée en mesurant, dans les mêmes conditions, plusieurs solutions étalons préparées à partir d'une solution mère (Figure 18) [113].

$$A = \epsilon . l . C$$

A : Absorbance, sans unité.

l : Epaisseur de la solution traversée.

C : Concentration de l'échantillon absorbant.

ϵ : coefficient d'extinction molaire.

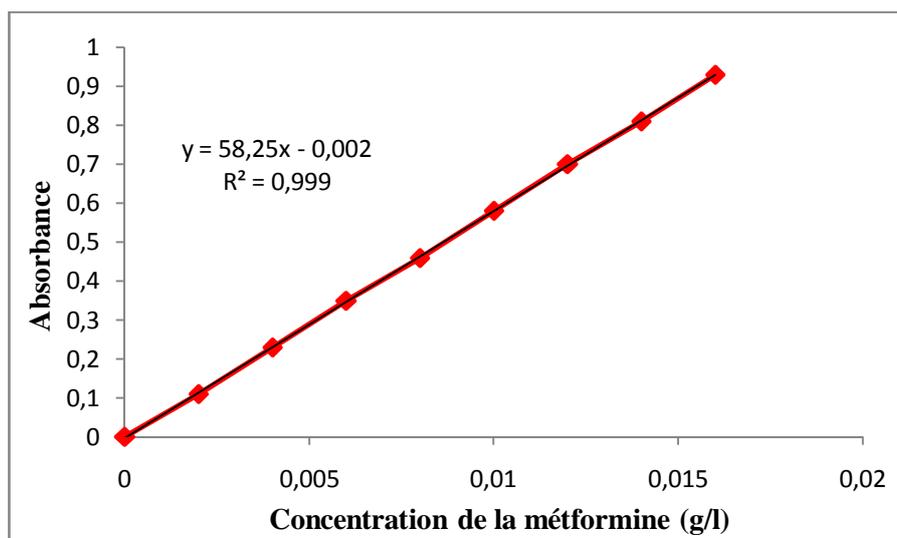


Figure 18 : Courbe d'étalonnage représentant l'absorbance en fonction de la concentration de chlorhydrate de metformine.

Partie : V.1. Caractérisations

V.1.1.Introduction :

Ce chapitre regroupe les résultats obtenus au cours de cette étude et leurs interprétations. Cette première partie renferme les résultats des différentes analyses expérimentales qui ont été effectuées dans le but de caractériser la matière première utilisée, les mélanges des deux polymères et les formulations contenant la metformine afin de tirer des conclusions sur les interactions mises en jeu, si elles existent, entre les constituants de ces différentes préparations.

V.1.2.Caractérisation de la matière première :

V.1.2.1 : Analyse par diffraction des rayons X :

La diffraction des rayons X nous a permis de déterminer les distances réticulaires qui séparent les plans cristallographiques au niveau de chaque échantillon. Elles ont été calculées à partir de la loi de Bragg : $d = n \cdot \lambda / 2 \sin(\theta)$ ($\lambda = 1.5404$ nm).

➤ Polycaprolactone (PCL) :

Le polycaprolactone possède deux pics cristallins intenses, apparus en $2\theta = 21.55$ et en $2\theta = 23.79$.

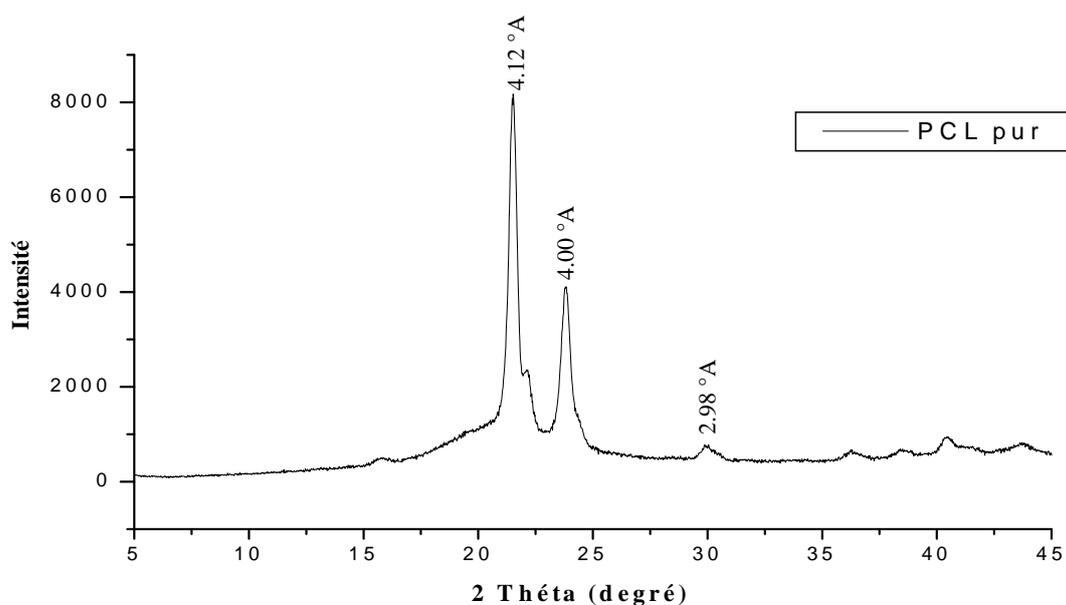


Figure 19 : Spectre DRX du polycaprolactone.

➤ *Polyéthylène glycol (PEG) :*

Le polyéthylène glycol, présente aussi deux pics cristallins intenses, apparus en $2\theta = 18.93$ et 23.13 degré, attribués à $d=4.63$ et $d=3.82$ °A respectivement.

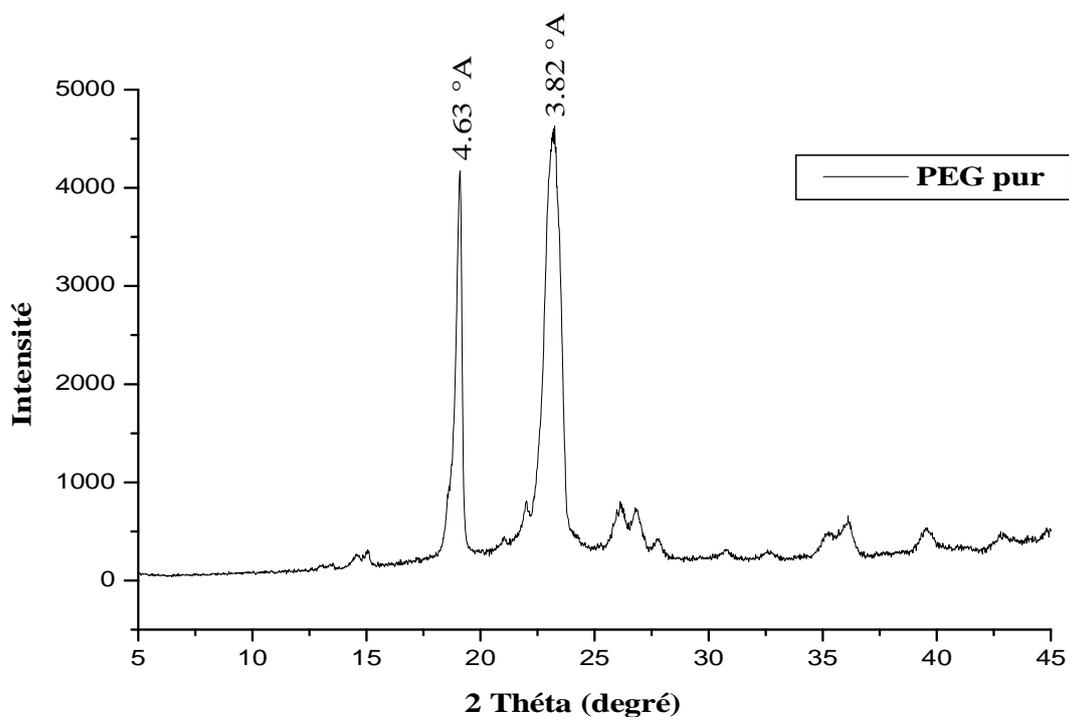


Figure 20 : Spectre DRX du polyéthylène glycol.

➤ *Chlorhydrate de metformine :*

Quant à elle, le spectre DRX représenté sur la figure 21, montre qu'elle possède plusieurs pics cristallins apparus en $2\theta = 12.09$, $2\theta = 17.47$, $2\theta = 24.44$, $2\theta = 28.29$, $2\theta = 31.05$, $2\theta = 37.09$ et en $2\theta = 39.20$ degré, cette dernière est la plus intense.

Ces pics sont attribués respectivement aux distances réticulaires suivantes : 7.39, 5.09, 3.64, 3.15, 2.87, 2.41 et 2.30 °A.

Selon Mayer et Epelbon, la structure cristalline du chlorhydrate de metformine est de type monoclinique [114].

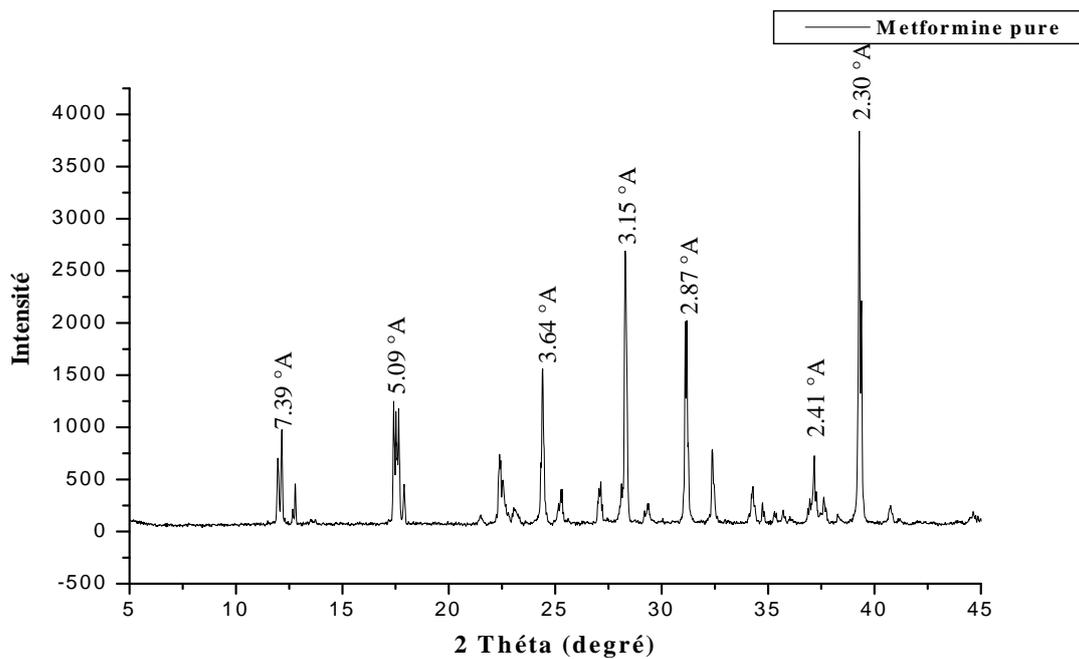


Figure 21: Spectre DRX de Chlorhydrate de metformine.

V.1.2.2 : Analyse par spectrophotométrie IRTF :

➤ Polycaprolactone (PCL) :

La figure ci-dessous représente le spectre d'absorption du PCL en infrarouge.

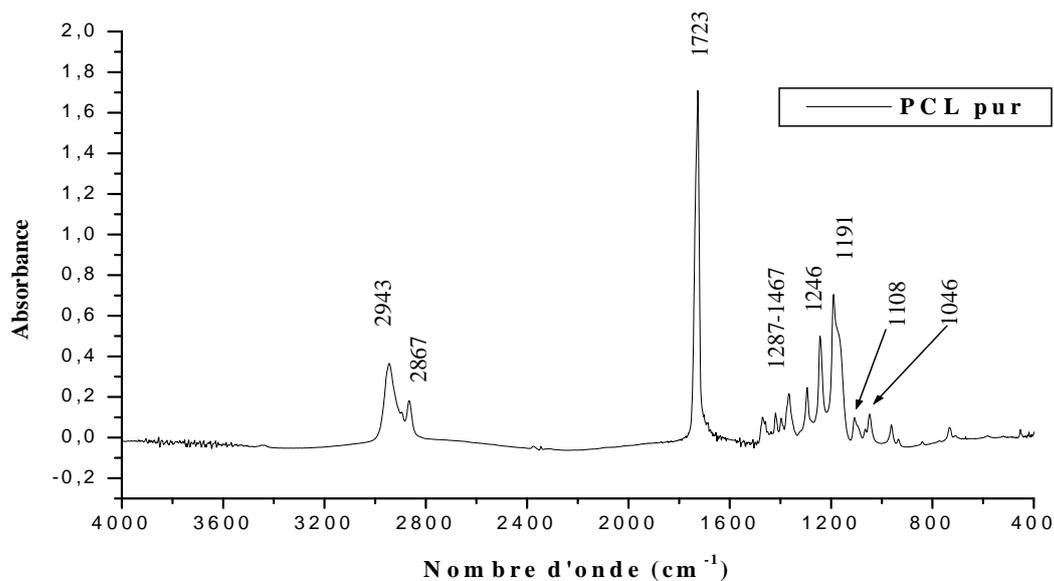


Figure 22: Spectre IR-TF du polycaprolactone.

On remarque la présence de la plus part des pic dans la zone des empreintes digitales (1500 à 1000 cm^{-1}), ces pic sont attribués aux liaisons : C=O et C-O-C

Selon la littérature [115], les principales bandes d'absorption de la polycaprolactone et leurs attributions sont les suivantes :

Tableau 5 : les principales bandes d'absorption de la polycaprolactone en infrarouge.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution aux liaisons
1820-1660	C=O
1300-1000	C-O
1467-1104	C-O-C
2938-2866	CH ₂

: vibration de déformation ; : vibration de valence

➤ **Polyéthylène glycol (PEG) :**

Egalement pour le PEG, ses pics sont regroupés dans la zone des empreintes digitales,

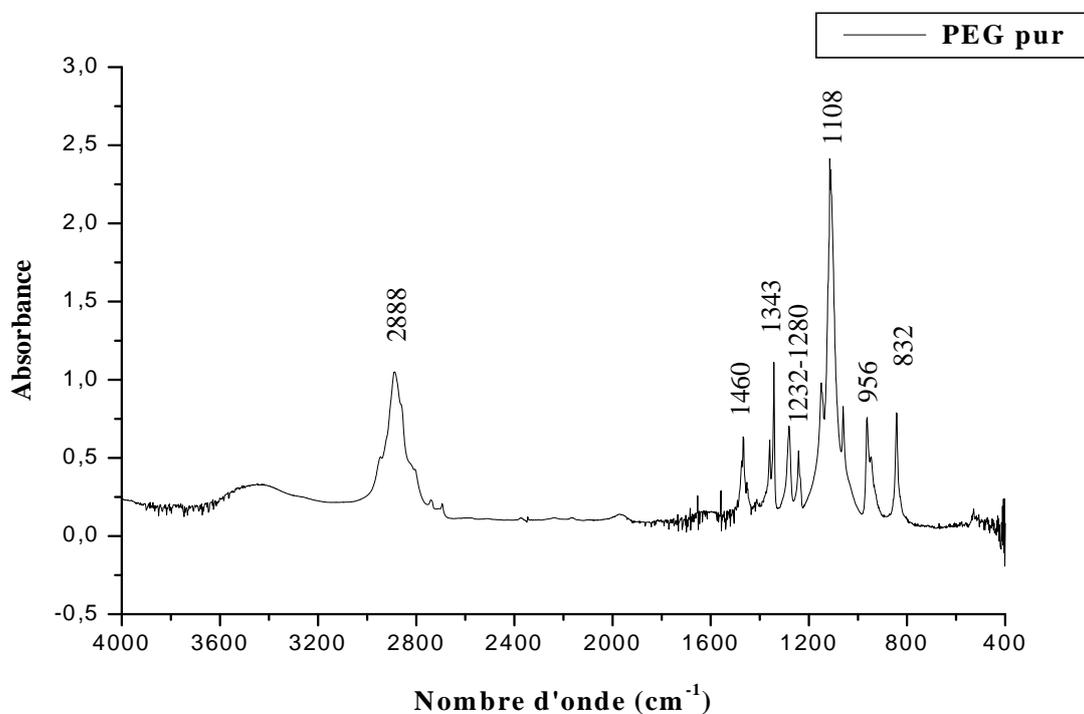


Figure 23 : Spectre infrarouge du polyéthylène glycol

Ces vibrations sont attribuées aux groupements fonctionnels récapitulés dans le tableau 6

Tableau 6 : les différents groupements fonctionnels du polyéthylène glycol

Attribution	Nombre d'onde expérimental (cm ⁻¹)
Vibration de valence symétrique des groupements CH ₂	2880
Vibration de déformation des groupements CH ₂	1460
Vibration de déformation des groupements CH ₂	1343
Vibration de déformation des groupements CH ₂	1280-1232
Vibration de valence antisymétrique des groupements C-O-C	1108, 956, 832

➤ *Chlorhydrate de metformine :*

Les attributions des bandes d'absorption de la metformine sont récapitulées dans le tableau 7

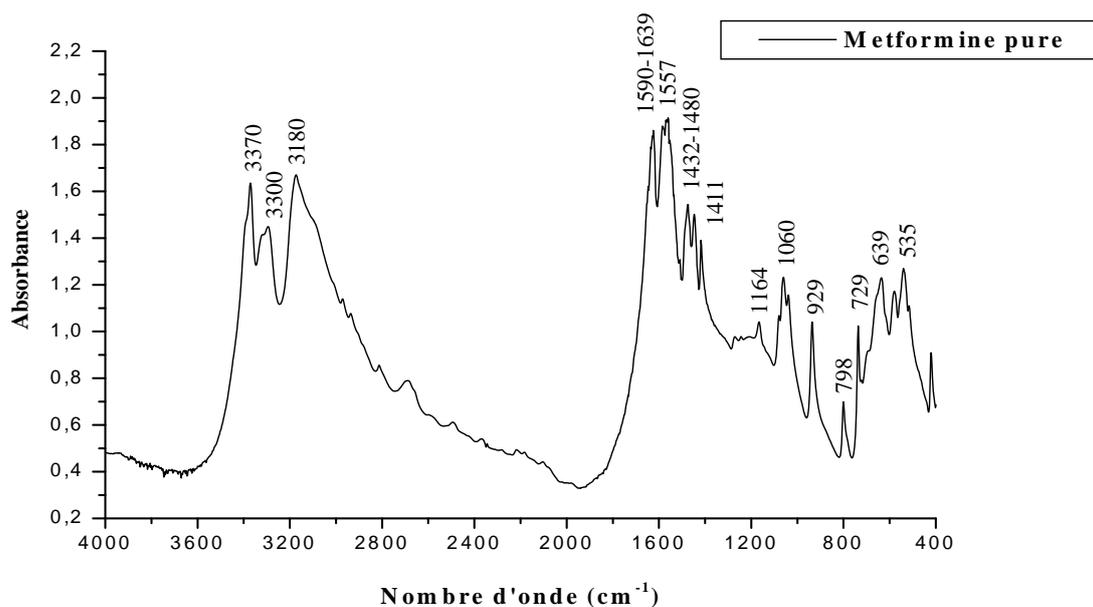


Figure 24: Spectre IR-TF de Chlorhydrate de metformine.

Tableau 7 : différents groupements fonctionnels de chlorhydrate de metformine et leurs modes de vibrations.

Fréquences Cm-1	Références en fréquences Cm-1	Groupements
532-571	480-510	C-N-C
609-640	600-800	C-C1
733-795	740-810	C-H des CH3
1060	1000-1250	C-N
1200	1000-1250	C-N
1430	1350-1480	-CH3
1470-1480	1440-1470	-NH2
1600-1640	1590-1650	N-H
3180	3130-3030	H-N =
3300-3370	3300-3500	Deux bonds de = N-H

V.1.3. Caractérisation du mélange PCL/PEG :

V.1.3.1 : Analyse par diffraction des rayons X :

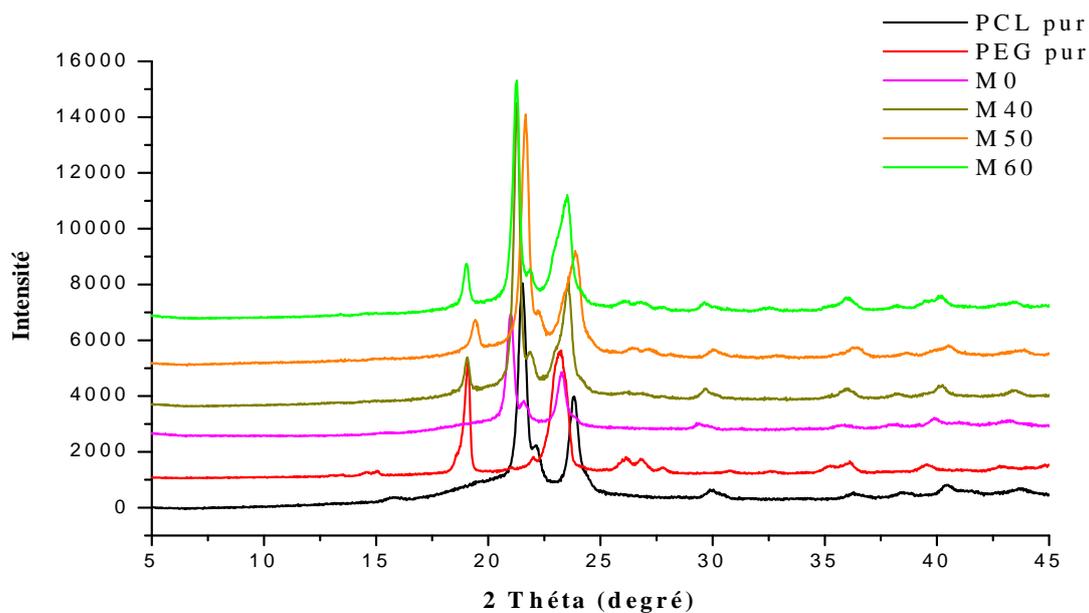


Figure 25 : Spectre DRX du mélange PCL/PEG.

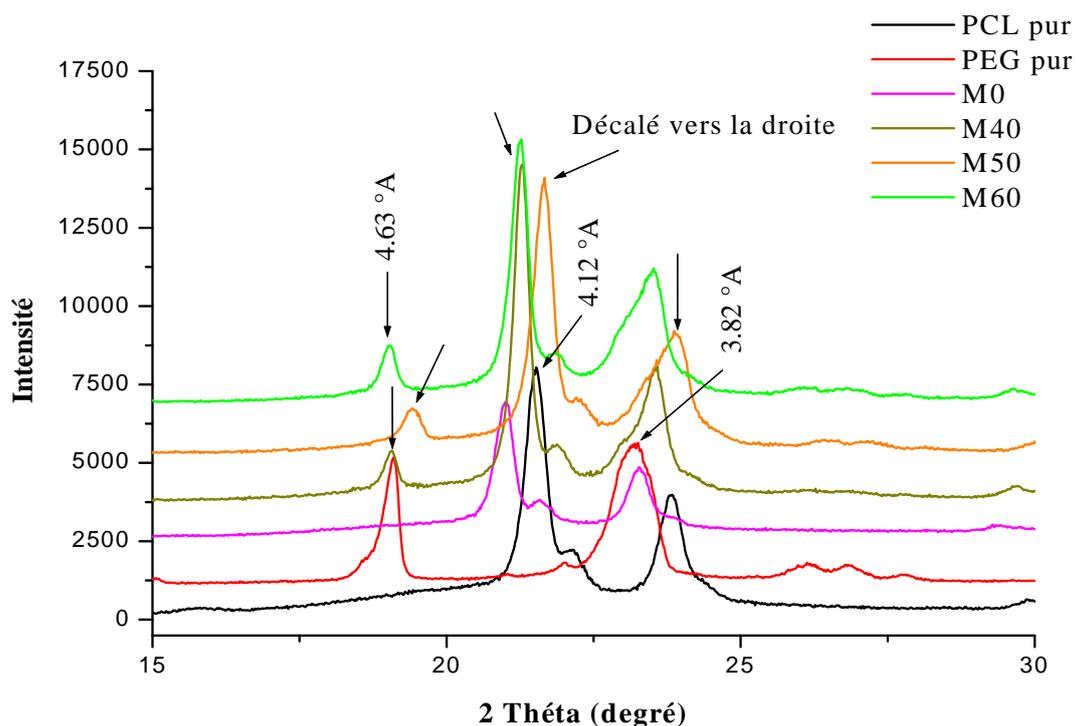


Figure 26 : Zoom du spectre DRX du mélange PCL/PEG

Les figures 25 et 26 représentent les résultats d'analyses DRX effectuées sur le mélange des deux polymères. On remarque en premier, l'apparition des pics caractéristiques du PCL et PEG au niveau des mélanges et l'absence de nouvelles phases cristallines (séparation des phases du PCL et PEG)

Le mélange M0 n'est pas superposé sur le spectre du PCL pur, cela peut être dû à sa recristallisation après sa fusion à 100°C, d'où le changement des distances interfeuillet.

Le spectre du mélange M50 enregistre un décalage vers des angles plus élevées, ce qui signifie la diminution des distances inter-réticulaires au niveau de ce mélange formé de 50% PCL et 50% PEG .

V.1.4. Caractérisation des formulations :

V.1.4.1. Analyse par diffraction des rayons X :

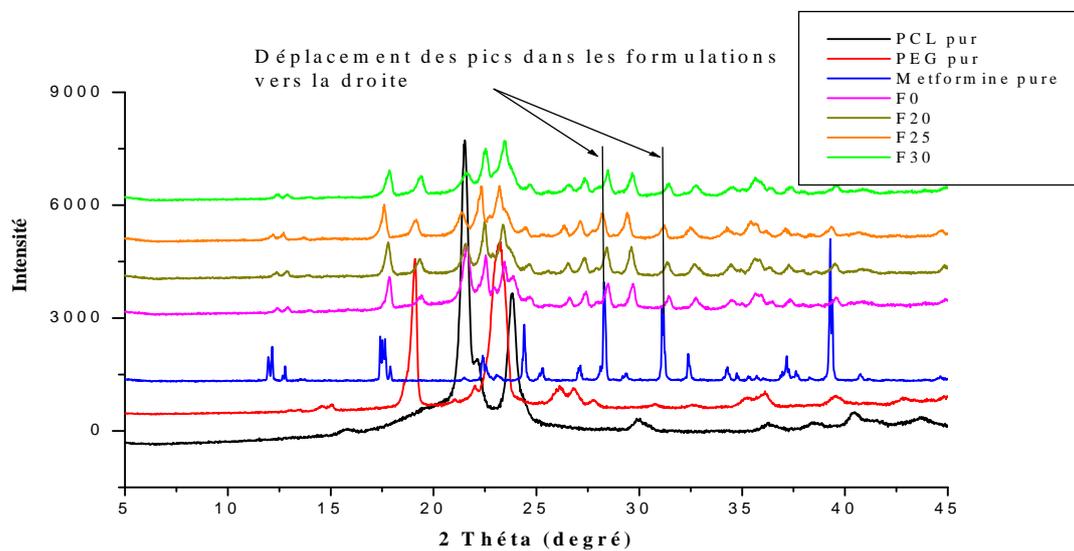


Figure 27: spectre DRX des formulations

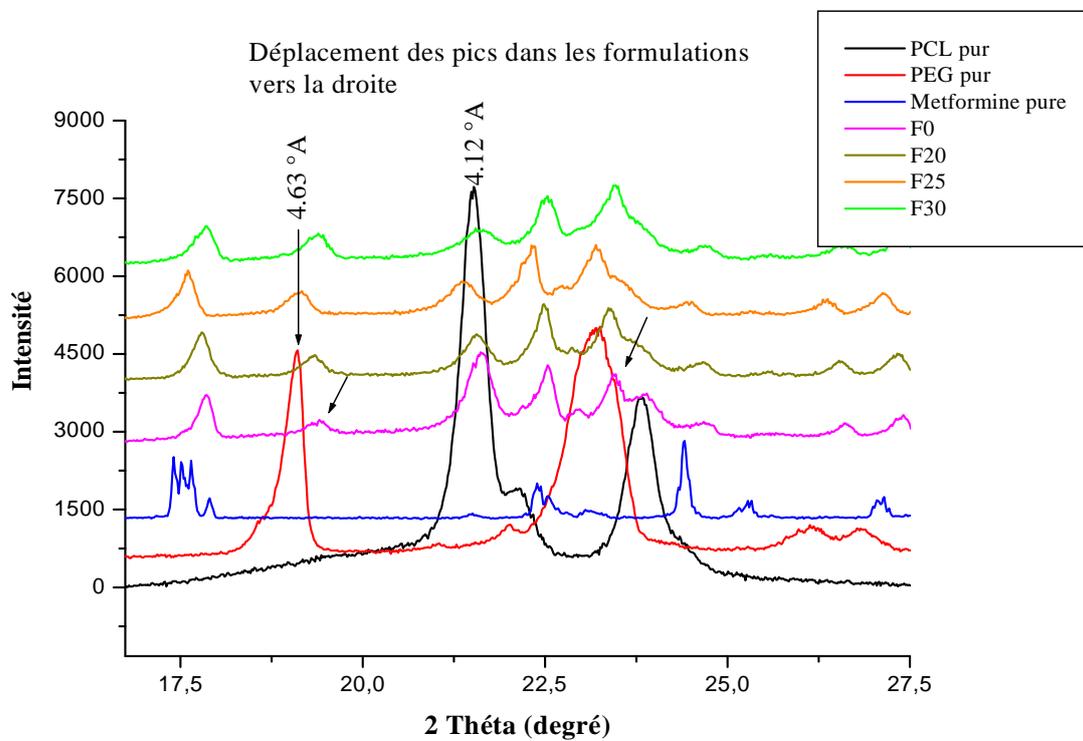


Figure 28 : Zoom du spectre DRX des formulations.

L'analyse DRX montrée en figures 27 et 28 a révélé la présence de la metformine dans toutes les formulations qu'on a préparées. On enregistre également l'absence de nouvelles phases cristallines et le déplacement des pics vers la droite c'est-à-dire : diminution des distances inter-réticulaires au niveau des formulations.

Au niveau de la formulation F0 qui ne contient pas de PEG, on a remarqué la présence d'un pic proche de 4.63° distance réticulaire caractéristique du PEG, cela soit est attribué à la présence de trace de PEG au sien de cette dernière, ou à l'apparition d'une nouvelle phase cristalline formé par l'interaction PCL-metformine.

V.1.4.2. Analyse par spectrophotométrie IRTF :

La présence de la metformine dans toutes les formulations est également justifiée par l'analyse par spectrophotométrie infrarouge. On remarque aussi l'absence de nouvelles bandes d'absorption ce qui signifie l'absence de liaisons caractéristiques entre les différents constituants de ces formulation obtenu cette voie mécanique (l'extrusion).

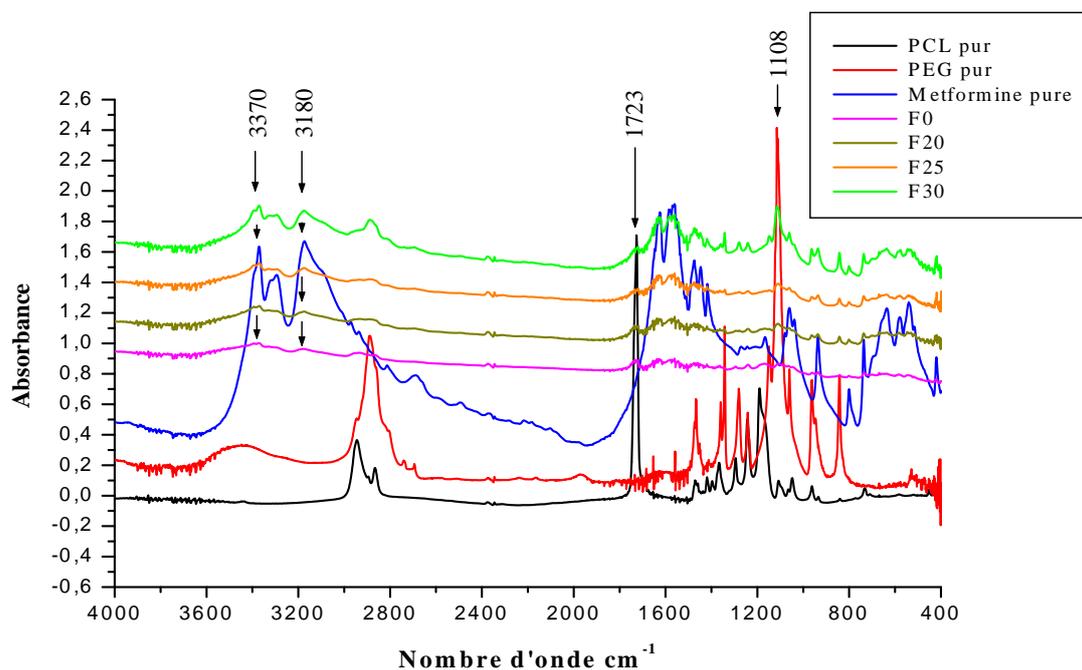


Figure 29 : spectre IR-TF des formulations.

V.1.4.3 Analyse calorimétrique différentielle (DSC) :

Le résultat de cet analyse est élucidé sur la figure ci-dessous :

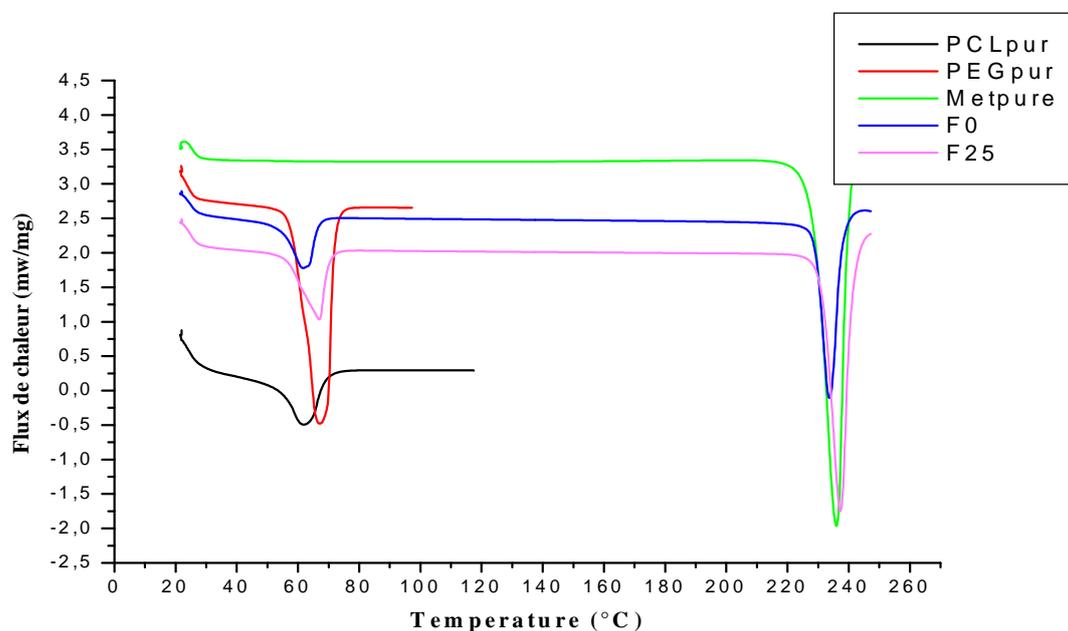


Figure 30 : courbes DSC des formulations.

Les températures de fusion de la metformine, PCL et PEG purs sont regroupées dans le tableau 8

Tableau 8: Températures de fusion de la metformine, PCL et PEG purs.

	Metformine	PCL	PEG
T_f (°C)	236.17	62.37	67.52

Ces températures de fusion on les retrouve bien dans les formulations F0, F25 (tableau 9).

Tableau 9: Températures de fusion des formulations F0 et F25.

	F0	F25
T_f (°C)	62.73 ; 233.29	66.33 ; 237.25

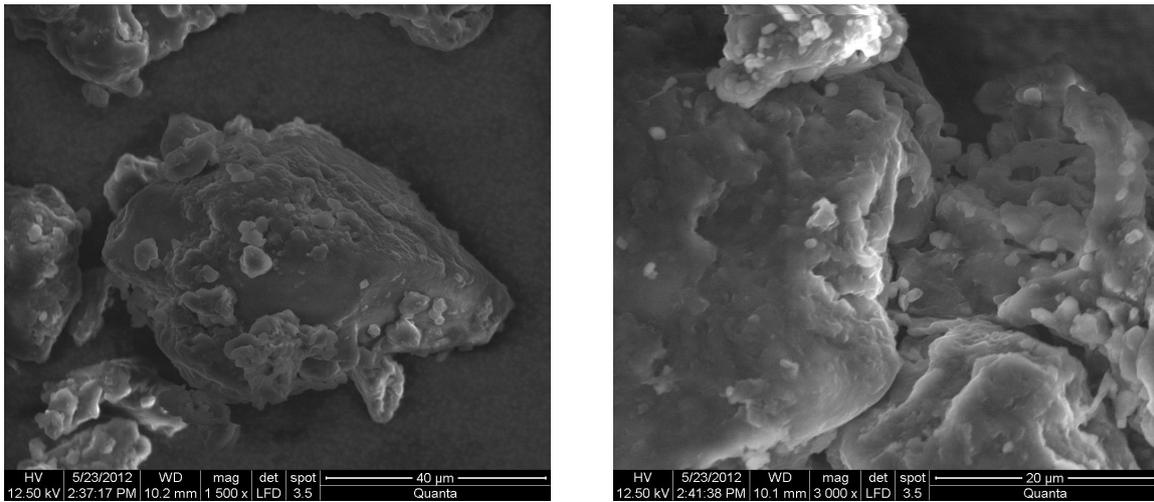
V.1.4.4. Analyse MEB :

Figure 31 : Micrographies MEB des formulations.

Ces micrographies montrent des cristaux entourés par la matrice polymérique, ces cristaux sont attribués au chlorhydrate de metformine ($T_f = 236.17^\circ\text{C}$) qui ne fond pas à 100°C température du protocole expérimental de l'extrusion.

Partie V.2. Cinétique de relargage de la metformine

V.2.1. Cinétique de relargage :

Les résultats de la cinétique de relargage de la metformine à travers les différentes formulations en fonction du temps sont rapportés par les figures suivantes :

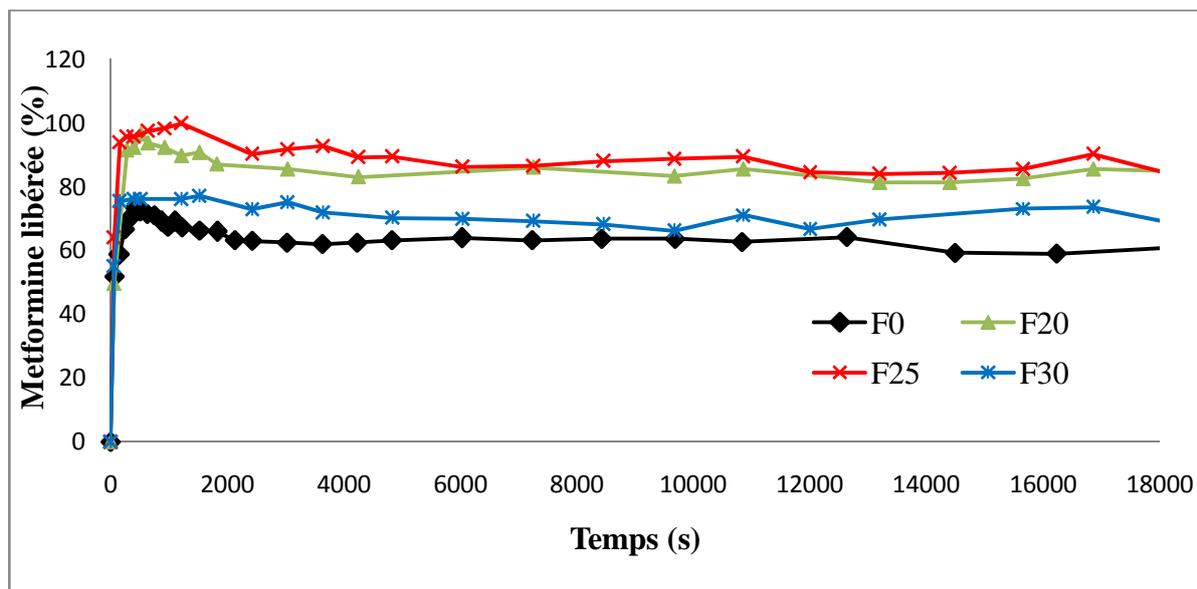


Figure 32 : Cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 2 mm

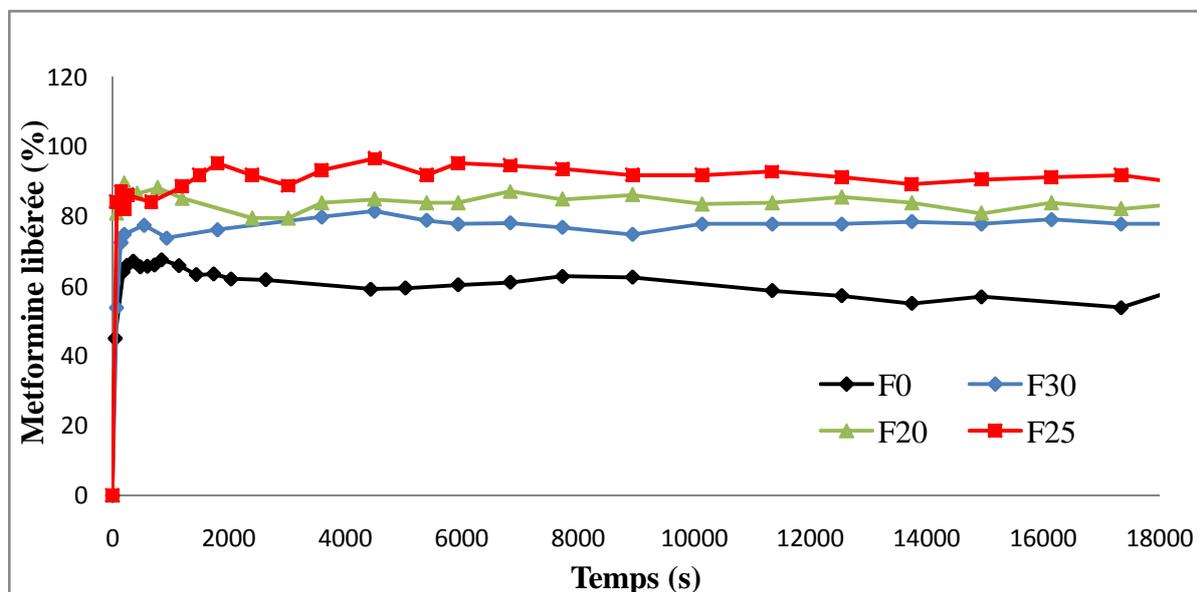


Figure 33 : Cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 0.5 mm

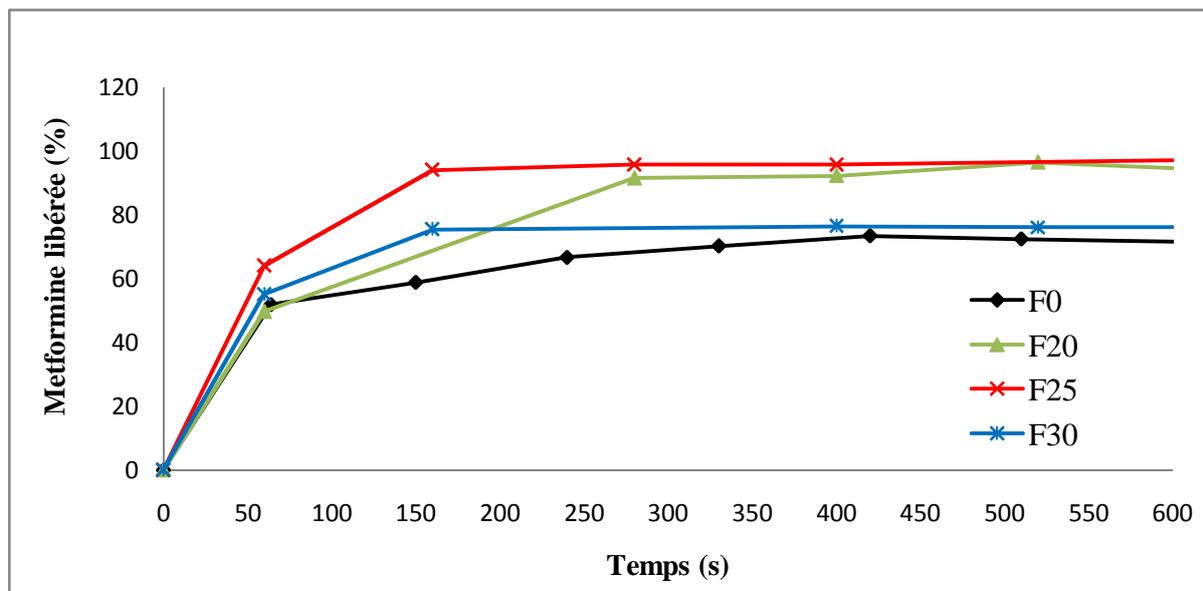


Figure 34 : Zoom de première partie du graphe : cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 2 mm

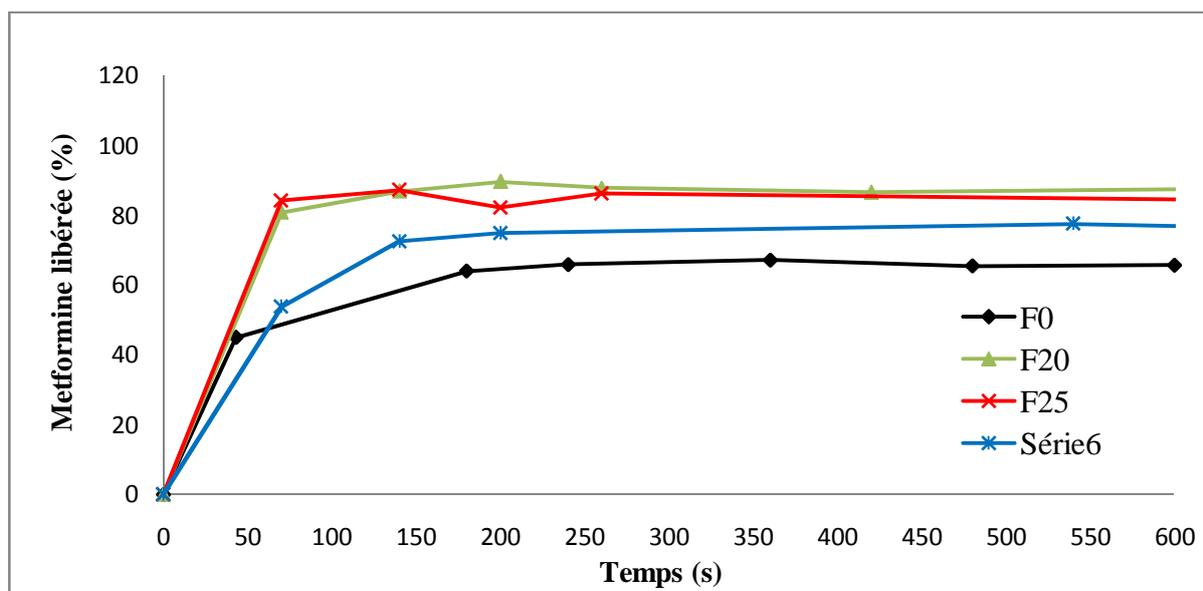


Figure 35 : Zoom de première partie du graphe : cinétique de relargage de la métformine pour le diamètre 0.5 mm

L'allure obtenue dans les deux cas (diamètre 2 et 0,5mm) et pour toutes les formulations reflète une dissolution rapide de la métformine, dans le milieu physiologique, au début des trois premières minutes suivi de la formation d'un palier témoignant le relargage constant et continue de celle-ci. Cela s'explique par le caractère hydrophile de notre principe actif et son adsorption à la matrice polymérique formée, c'est-à-dire au niveau des granules.

L'allure des courbes révèle une cinétique d'ordre un [47] qui correspond à la majorité des profils observés lors de la libération de principes actifs encapsulés dans les nano/microparticules. Au début de la libération la vitesse est rapide (diffusion du principe actif encapsulé proche de la surface) puis se ralentit (diffusion plus lente du principe actif qui se trouve au cœur de la matrice).

Selon la littérature, ce type de dissolution désigne la cinétique de libération de la forme dite prolongée où la quantité du principe actif libérée reste constante par unité du temps ce qui permet de maintenir plus longtemps les concentrations plasmatiques dans la zone d'efficacité thérapeutique.

L'effet retard est attribué à la formulation F0 qui est formé de 50% de PCL et 50% de metformine sans l'incorporation du PEG, ce qui est évident car le PCL est hydrophobe.

Il est clairement montré que la vitesse de relargage est rapide notamment pour la formulation F20 et F25.

En effet, il a été remarqué lors du test de dissolution des formulations solides préparées, la transformation des comprimés des formulations F20 et F25 en agrégats et la préservation plus en moins intacte de la forme initiale pour les formulations contenant un pourcentage élevé en polycaprolactone comme la F1 et notamment la F0 qui est dépourvu du polyéthylène glycol.

D'ailleurs, c'est les formulations F20 et F25 qui libèrent la quantité maximale en principe actif, puis elle diminue avec l'augmentation du pourcentage du PEG. Pour mieux illustrer, on a tracé la masse maximale de metformine libérée en fonction du pourcentage du PEG (figure 36).

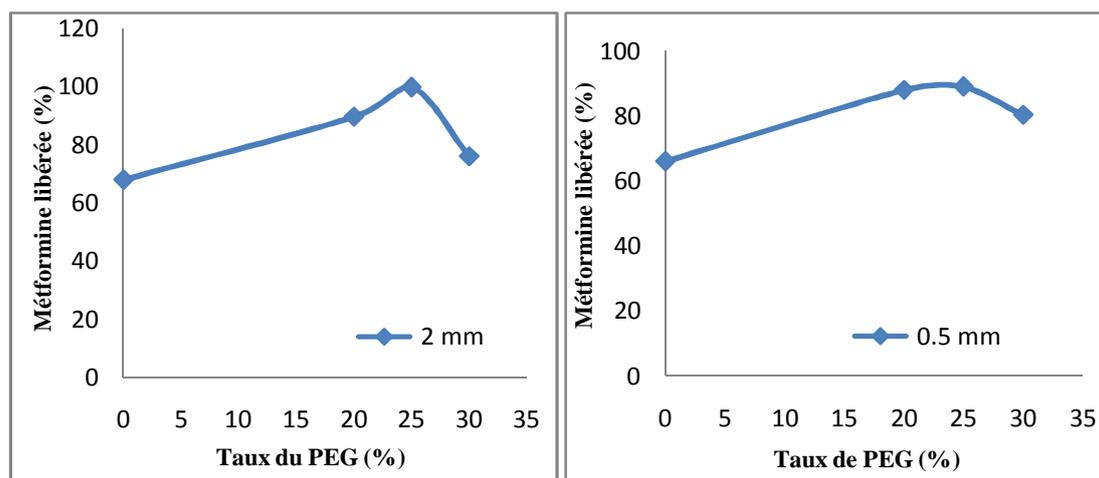


Figure 36 : Représentation de la masse maximale de metformine libéré en fonction du pourcentage du PEG.

Les figures précédentes montrent clairement que c'est la formulation F25 qui libère le maximum en principe actif puis une diminution du pourcentage de metformine libéré avec l'augmentation du taux de PEG à 30%, cela veut dire qu'on a optimisé le taux de PEG au niveau de toutes les formulations à 25%.

V.2.2. Effet du diamètre des granulés sur la cinétique de libération :

Les résultats de notre étude (figures : 37, 38 et 39) à révélé qu'effectivement le diamètre des granulés joue un rôle important dans la cinétique de libération des principes actifs. Dans notre cas, on a trouvé que c'est les comprimés formés avec les granulés de diamètre 0.5mm retardent le relargage de la metformine mais avec un pourcentage de libération qui ne dépasse pas les 60 %.

Par contre les granulés du diamètre 2mm libèrent de grandes quantités de metformine, jusqu'à même 100% mais suivant une cinétique accéléré.

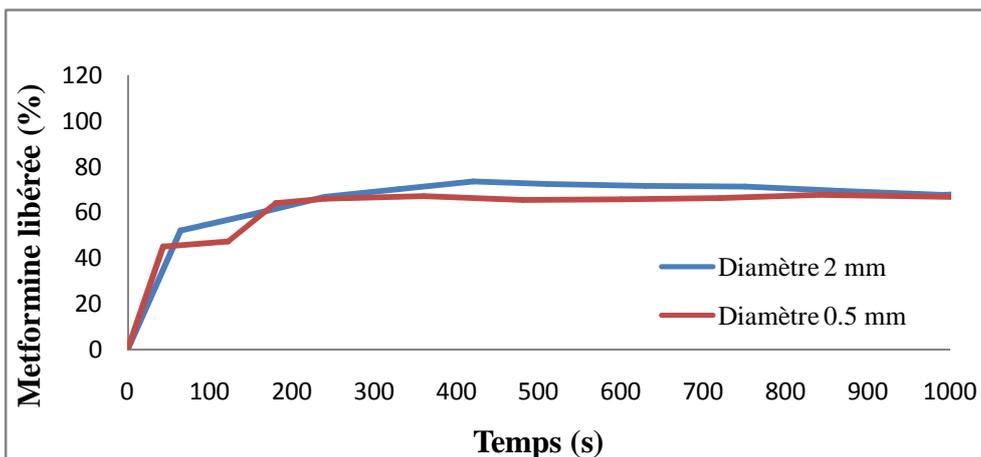


Figure 37 : Effet du diamètre de la formulation F0

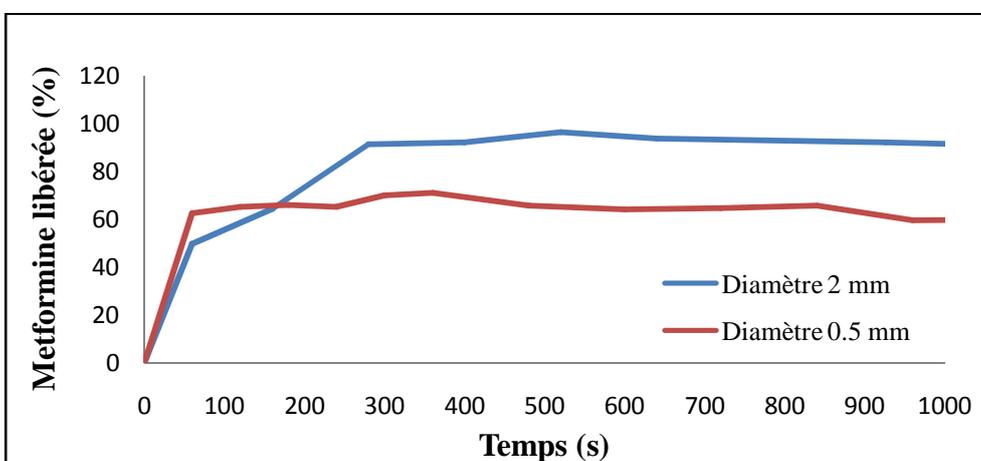


Figure 38 : Effet du diamètre de la formulation F20

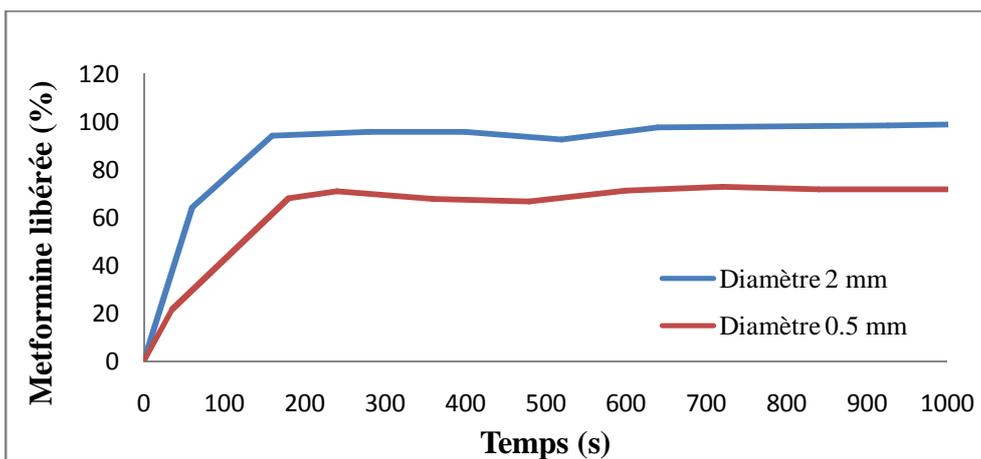


Figure 39 : Effet du diamètre de la formulation F25

Cette différence du taux de libération est enregistrée particulièrement pour la formulation possédant 25% du polyéthylène glycol (F25) (figure 40).

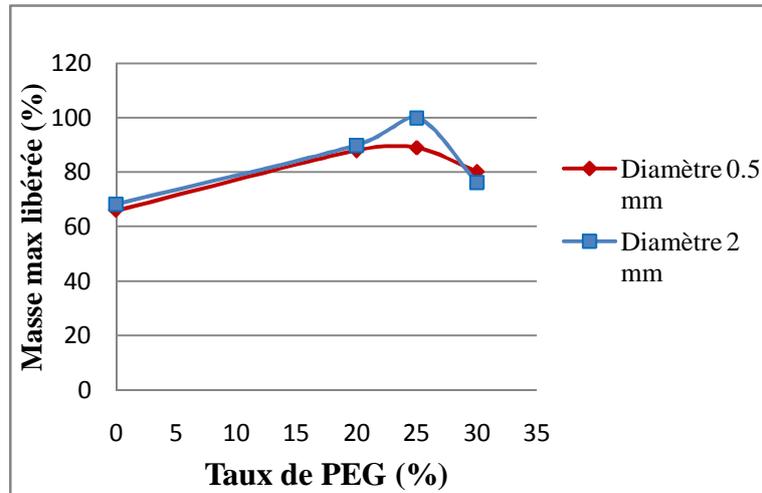


Figure 40 : Représentation de la masse maximale de metformine libéré en fonction du pourcentage du PEG pour les deux diamètres.

Conclusion générale

Dans ce travail, nous avons élaboré, en premier, un mélange de polymère composé du polycaprolactone (PCL), de caractère hydrophobe et du polyéthylène glycol (PEG) de caractère hydrophile, préparé par voie mécanique, ce mélange a été caractérisé par une analyse de diffraction des rayons X qui a révélé la séparation des phases cristallines au niveau de ce dernier. Cela nécessite l'utilisation de molécules tensioactives pour diminuer les charges entre ces deux macromolécules.

Ce cas est également le même pour les formulations F0, F20, F25 et F30, préparées par le même procédé d'extrusion et qui contiennent, en plus de la matrice polymérique, 50% du chlorhydrate de metformine.

La présence de ce principe actif dans les formulations a été confirmée par les résultats des différentes analyses effectuées.

Les essais de la cinétique de relargage de la métformine ont révélé une libération rapide expliquée par l'effet de Beurst, suivi d'une libération prolongée au cours du temps, durant plus de cinq heures, pour toutes les préparations et à différents diamètres, ce qui est noté positif.

Références bibliographiques

- [1]. Koo OM, Rubinstein I et Onyuksel H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **1**(3), 193-212, (2005).
- [2]. Li LY. A novel antiangiogenesis therapy using an integrin antagonist or anti-FLK-1 antibody coated Y-90-labeled nanoparticles. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, **58**(4), 1215-1225, (2004).
- [3]. Goutayer M. Nano-émulsions pour la vectorisation d'agents thérapeutiques ou diagnostiques; étude de la biodistribution par imagerie de fluorescence *in vivo*. Thèse de doctorat, Université pierre et marie curie, (2008).
- [4]. Socha M. Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et des protéines : Application à l'absorption par voie orale et à la furtivité. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré à Nancy I, (2008).
- [5]. Couvreur P, Buri, P. Puisieux, F. Doelker, E. Benoit, J. Vecteurs nanoparticulaires de médicaments. Formes pharmaceutiques nouvelles. Aspects technologique, biopharmaceutique et médical. ed Tec et Doc.P. 577-611. (1985).
- [6]. Benoit JP, Couvreur P, Devissaguet JP, Fessi H, Puisieux F, et Roblot L. Les formes vectorisées ou à distribution modulée, nouveaux systèmes d'administration des médicaments. *J. Pharm. Belg.*, **5**, 319-329. (1986).
- [7]. Couvreur P, Tulkens P, Roland M. Nanocapsules à New type of lysomotropic carrier. *FEBS Letters.*, **84**, 323-326. (1977).
- [8]. Gregoriadis G. Targeting of drugs, *Nature*, **265** (5593), 407-411. (1977).
- [9]. Fattal E, Youssef M, Couvreur P. Treatment of experimental salmonellosis in mice with ampicillinbound nanoparticles, *Antimicrob. Ag. And Chem.*, **33**, 1540-1543. (1989).
- [10]. Torchilin VP, Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **58**(14), 1532-1555. (2006).

- [11]. Moghimi SM, Hunter AC, et Murray JC, *Long-circulating and target-specific nanoparticles: Theory to practice. Pharmacological Reviews*, **53**(2), 283-318. (2001).
- [12]. Maruyama K, Ishida O, Takizawa T. Possibility of active targeting to tumor tissues with liposomes. *Adv. Drug Del. Rev.*, **40**, 89-102. (1999).
- [13]. Brighet A. Strategies d'adressage des nanoparticules a base de dextrane dirigées contre les récepteurs au VEGF. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré à Nancy, (2010).
- [14]. Martinez-Barbosa ME. Synthèse de dérivés du poly(L-glutamate de benzyle). Préparation et caractérisation de nanoparticules multifonctionnelles. Thèse de Doctorat. Université Paris XI. (2006).
- [15]. Sawant RM. "SMART" drug delivery systems: Double-targeted pH-responsive pharmaceutical nanocarriers. *Bioconjugate Chemistry*, **17**(4), 943-949. (2006).
- [16]. Koo OM, Rubinstein I, Onyuksel H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **1**(3), 193-212. (2005).
- [17]. Torchilin VP. Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **58**(14), 1532-1555. (2006).
- [18]. Gregoriadis G. Carrier Potential of Liposomes in Biology and Medicine. *New England Journal of Medicine*, **295**(13), 704-710. (1976).
- [19]. Pinto-Alphandary H, Andremont A, et Couvreur P. Targeted delivery of antibiotics using liposomes and nanoparticles: research and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **13**(3), 155-168. (2000).
- [20]. Source internet: <http://tpe-nanotechnologiecontrelecancer.emonsite.com/pages/traitement-du-cancer-avec-les-nanotechnologies/liposomes.html>.
- [21]. Boas U et Heegaard PMH. Dendrimers in drug research. *Chemical Society Reviews*, **33**(1), 43-63. (2004).
- [22]. Vinogradov SV, Bronich TK et Kabanov AV. Nanosized cationic hydrogels for drug delivery: preparation, properties and interactions with cells. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **54**(1), 135-147. (2002).
- [23]. Oh JK, The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in Polymer Science*, **33**(4), 448-477. (2008).

- [24]. Liu YL., Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers. *Analytical Chemistry*, **79**(6), 2221-2229. (2007).
- [25]. Parak, WJ, Biological applications of colloidal nanocrystals. *Nanotechnology*, **14**(7), R15-R27. (2003).
- [26]. Yan JL., Dye-doped nanoparticles for bioanalysis. *Nano Today*, **2**(3), 44-50. (2007).
- [27]. Cheon J et Lee JH. Synergistically Integrated Nanoparticles as Multimodal Probes for Nanobiotechnology. *Acc. Chem. Res.*, (2008).
- [28]. Gazeau F. Des nano-aimants pour le diagnostic et la thérapie. *CNRS, Laboratoire Matière et systèmes complexes, Université Paris-Diderot*, (2008).
- [29]. Oishi M, Kataoka K et Nagasaki Y. pH-responsive three-layered PEGylated polyplex micelle based on a lactosylated ABC triblock copolymer as a targetable and endosome-disruptive nonviral gene vector. *Bioconjugate Chemistry*, **17**(3), 677-688. (2006).
- [30]. Li LY. A novel antiangiogenesis therapy using an integrin antagonist or anti- FLK-1 antibody coated Y-90-labeled nanoparticles. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, **58**(4), 1215-1227. (2004).
- [31]. Ito A .Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **100**(1), 1-11. (2005).
- [32]. Kopelman R. Multifunctional nanoparticle platforms for in vivo MRI enhancement and photodynamic therapy of a rat brain cancer. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **293**(1), 404-410. (2005).
- [33]. Koo OM, Rubinstein I et Onyuksel H, Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, **1**(3), 193-212. (2005).
- [34]. Kabanov AV, Batrakova EV, Melik-Nubarov NS, Fedoseev NA, Dorodnich TY, Alakhov VY, Chekhonin VP, Nazarova IR, et Kabanov VA. A new class of drug carriers: micelles of poly(oxyethylene)-poly(oxypropylene) block copolymers as microcontainers for drug targeting from blood in brain. *J Control Release*, **22**(2), 141-157. (1992).
- [35]. Kwon GS, Kataoka K. Block copolymer micelles as long-circulating drug vehicles. *Adv Drug Deliv Rev*, **16**(2-3), 295-309. (1995).

- [36]. Kumar C. Nanotechnologies for life science, ed. *Biological and Pharmaceutical Nanomaterials*. (2006).
- [37]. Couvreur P. Polycyanoacrylate Nanocapsules as Potential Lysosomotropic Carriers - Preparation, Morphological and Sorptive Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **31**(5), 331-332. (1979).
- [38]. Shrivastava AK, Ridhurkar DN et Wadhwa S. Floating microspheres of cimetidine: formulation, characterization and *in vitro* evaluation. *Acta Pharma*, **55**, 277-285. (2005).
- [39]. Le UM et Cui Z. Long-circulating gadolinium-encapsulated liposomes for potential application in tumor neutron capture therapy. *Int J Pharm*, **312**(1-2), 105-12. (2006).
- [40]. Henriksen I, Smistad G, et Karlsen J, Interactions between liposomes and chitosan. *Int J Pharm*, **101**(3), 227-236. (1994).
- [41]. Cansell M, Parisel C, Jozefonvicz J et Letourneur D. Liposomes coated with chemically modified dextran interact with human endothelial cells. *J Biomed Mater Res*, **44**(2), 140-8. (1999).
- [42]. Mc Cormack B et Gregoriadis G. Drugs-in-cyclodextrins-in liposomes, a novel concept in drug delivery. *Int. pharm*, **112**, 249-258. (1994).
- [43]. Devassine M. La microencapsulation : Une Nouvelle Approche. Conférence CARMA - IB SUD. (2005).
- [44]. Richard J, Benoit JP. Microencapsulation, 7E-FLEqDE-UGE- l'UKTE-DrEGRF, P1-18. (2000).
- [45]. Shah SS, Cha Y, Pitt CG. Poly(glycolic acid-co-D,L-lactic acid): diffusion or degradation controlled drug delivery, *J. Control. Rel*, **18**, 261-270. (1992).
- [46]. Kreuter J. Nanoparticles, in: J. Kreuter (Eds.), *Colloidal Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York, Pp. 219-343. (1994).
- [47]. Sheikh-Hassan A. Microparticules à libération prolongée et réduisant la libération initiale prématurée. Université Henri Poincaré ó Nancy I. Ecole Doctorale " Biologie Sante Environnement, 216p. (2008).

- [48]. Gao H, Yang W, Min K, Zha L, Wang C, Fu S. Thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) nanocapsules with controlled permeability. *Polymer*, **46**, 1087-1093. (2005).
- [49]. Lamprecht A, Yamamoto H, Takeuchi H, Kawashima Y. pH-sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin, *J. Control. Release*, **98**, 1-9. (2004).
- [50]. Sauer M, Streich D, Meier W. pH-sensitive nanocontainers, *Adv. Mater.*, **13**, 1649-1651. (2001).
- [51]. Siepmann J, Faisant N, Akiki J, Richard J, Benoit JP. Effect of the size of biodegradable microparticles on drug release: experiment and theory, *J. Control. Release*, **96**, 123-134. (2004).
- [52]. Sansdrap P, Moes AJ. Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedine from poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres, *Int. J. Pharm.*, **98**, 157-164. (1993).
- [53]. Berkland C, King M, Cox A, Kim K, Pack DW. Precise control of PLG microsphere size provides enhanced control of drug release rate, *J. Control. Release*, **43**, 47-58. (2002).
- [54]. Berkland C, Kim K, Pack DW. PLG microsphere size controls drug release rate through several competing factors, *Pharm. Res.*, **20**, 1055-1062. (2003).
- [55]. Capan Y, Woo BH, Gebrekidan S, Ahmed S, De-Luca PP. Influence of formulation parameters on the characteristics of poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres containing poly(L-lysine) complexed plasmid DNA, *J. Control. Release*, **60**, 279-286. (1999).
- [56]. Klose D, Siepmann F, Elkharraz K, Krenzlin S, Siepmann J. How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles, *Int. J. Pharm.*, **314**, 198-206 (2006).
- [57]. Wiegand GJT. An exponential expression for in vitro release from sustained release preparations. *Drugs standards*, (1959).
- [58]. Campbell DJ JT., Determination of drug release from gradual release preparations. *Drugs standards*. (1958).
- [59]. Sai Cheong Wan L, Wan Sia Heng P et Fun Wong L. Matrix swelling: A simple model describing extent of swelling of HPMC matrices. *International Journal of Pharmaceutics*, **116**(2), 159-168. (1995).

- [60]. Parakh S R, Gothoskar AV et Karad MT. A novel method for the study of water absorption rates by swellable matrices, *Pharmaceutical Technology*. 40-48. (2003).
- [61]. Brossard DLDY.E.C., Matrices à action prolongée in R Science et techniques *Pharmaceutiques*. 341-345. (1976).
- [62]. BROSSARD C, les formes galéniques orales matricielles, *Actualités Pharmaceutiques*. 46-48. (2000).
- [63]. Salomon JL et DOELKER E. Formulation des comprimés à libération prolongée I. Matrices inertes, *Pharm. Acta Helv.* 174-182. (1980).
- [64]. Boudendouna AH. Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse), (2010).
- [65]. Zitouni Imounachen M. Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (Actualisation). Recommandation de bonne pratique. Argumentaire. AFSSAPS, (2006).
- [66]. Chevenne D, Trivin F. Diabetes mellitus : proposal of new diagnostic and classification criteria. *Ann Biol Clin*, **56**(4), 463-70. (1998).
- [67]. Expert Committee On The Diagnosis Classification Of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **26** Suppl 1 : 5-20. (2003).
- [68]. Engelgau MM, Thompson TJ, Herman WH, Boyle JP, Aubert RE, Kenny SJ, Comparison of fasting and 2-hour glucose and HbA1c levels for diagnosing diabetes : diagnostic criteria and performance revisited. *Diabetes Care*, **20** (5), 785-91. (1997).
- [69]. Finch CF, Zimmet PZ, Alberti KG. Determining diabetes prevalence: a rational basis for the use of fasting plasma glucose concentrations ? *Diabet Med* **7** (7), 603-610. (1990).
- [70]. Charles MA, Balkau B, Vauzelle-Kervroedan F, Thibault N, Eschwege E, et al. Revision of diagnostic criteria for diabetes, *Lancet*, **348**(9042), 1657-1658. (1996).
- [71]. Marshall WJ, Bangert SK. Biochimie médicale : physiopathologie et diagnostic. Paris : Elsevier Campus Reference, (2005).

[72]. Barker J, Goehrig S, Barriga K, Hoffman M et Slover R. Clinical characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes through intensive screening and follow-up. *Diabetes Care*, **27**, 1399-1404. (2004).

[73]. Pineda M et Dooley M. The endocrine pancreas, Veterinary endocrinology et reproduction. 5th edition. Mc Donaldø Ames, Iowa, 35-72. (2003).

[74]. Fischer-Ghanassia P et Ghanassia E. Le diabète In: Endocrinologie-Nutrition 4ème édition. Edition Vernazobres-Greco, 119-222. (2007).

[75]. Winter W, Harris N et Schatz D. Immunological markers in the diagnosis and prediction of autoimmune type 1a diabetes. *Clinical Diabetes*, **20**, 183-191. (2002).

[76]. Zhou G, Myers R, Li Y . Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformine action. *J Clin Invest*, **108**,1167-74. (2001).

[77]. Bolen S, Feldman L, Vassy J .Systematic review : Comparative effectiveness and safety of oral medications for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*, **147**, 386-99. (2007).

[78]. Santus G, Baker RW et Robert AM, Pharmaceuticals, Controlled Release of, in Encyclopedia of Physical Science and Technology. *Academic Press*. p. 791-803. (2001).

[79]. Kim DY et Rhee YH, Biodegradation of microbial and synthetic polyesters by fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **61**(4), 300-308. (2003).

[80]. Okada M. Chemical syntheses of biodegradable polymers. *Prog. Polym. Sci.*, **27**, 87-133. (2002).

[81]. Brocchini S. Handbook of biodegradable polymers by Abraham J. Domb, Joseph Kost, and David M. Wiseman. (1998).

[82]. Iroh JO. Polymer Data Handbook. Oxford University Press, New York, p361. (1999).

[83]. Shibasaki Y, Sanada H, Yokoi M, Sanda F et Endo T. *Macromolecules*, **33**, 4316. (2000).

[84]. Gazeau-Bureau S, Delcroix D, Martín-Vaca B, Bourissou D, Navarro C et Magnet S. *Macromolecules*, **41**, 3782. (2008).

- [85]. Kobayashi S. *J. Polym. Sci., Part A : Polym. Chem.*, **37**, 3041. (1999).
- [86]. Li S, Garreau H, Pauvert B, McGrath J, Toniolo A et Vert M. Enzymatic degradation of block copolymers prepared from 3-caprolactone and poly(ethylene glycol), *Biomacromolecules* **3**, 5256530. (2002).
- [87]. Rosa DS, Rodrigues TC, Guedes CGF et Calil MR. Effect of thermal aging on the biodegradation of PCL, PHB-V, and their blends with starch in soil compost, *Journal of Applied Polymer Science*, **89**(13), 353963546. (2003).
- [88]. Koller A. Matériaux composites : utilisation de fibres végétales, *rapport FAT N° 503*, (1998).
- [89]. Tuba F, Borbas L, Nagy P et Olah L. Hydrolysis Induced Deterioration Of Compressive Properties of poly-ε-caprolactone, *Faculty of Mechanical Engineering*, **37**(1), 33-37. (2009).
- [90]. Dossier Technique 19 | MAGMAT | N°18 / AVRIL - JUIN (2006).
- [91]. Saez, Fermandy E, Ruiz MA, Arias JI, Drug delivery systems based on poly(ε-caprolactones) for cancer treatment, *Ars Phar*, **50**(2), 83-96. (2009).
- [92]. Sinha VR, Bansal K, Kaushik R, Kumria R, Trehan A. poly-ε-caprolactones microspheres and nanospheres: an overview, *International Journal of pharmaceutics* **278**, 1-23. (2004).
- [93]. Chandra R. Rustgi R. Biodégradable polymères. *Progress in polymer science*, **23**(7), 1273-1335. (1998).
- [94]. Bougougnon F, Réhel KV. Peintures marines antifouling de nouvelle génération. Laboratoire de biotechnologie et chimie marines EA 3884, Bp 92116, 56321, (2008).
- [95]. Bastioli C. Biodegradable materials- Present situation and future perspectives. *Macromolecular Symposia (38th Microsymposium on Recycling of Polymers)*, 135. (1998).
- [96]. Wawrezynieck A, Péan JM, Wuthrich P, Benoit JP, Biodisponibilité et vecteurs particuliers pour la voie orale, *Medecine/ Sciences*, **24**, 659-664. (2008).
- [97]. Park JH, Ye M et Park K. Biodegradable polymers for microencapsulation of drugs, *Molecules*, **10**, 146- 161. (2005).
- [98]. Landreau E , Aguni Y , Chevalier Y et Hamaide T. Stabilisation de suspensions

aqueuses de nanoparticules de polycaprolactone par les copolymères à blocs poly(oxyde d'éthylène)-b-poly(caprolactone). Thèse de doctorat (2006).

[99]. Berrabah M. Etude de l'influence de la mise sous forme de nanoparticules sur le métabolisme de la 3-(4-aminophényl)-3-éthyl-2,6-piperidinedione. thèse de doctorat. (2000).

[100]. Crump, E. L. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, Wiley, New York, (1982).

[101]. Bailey Jr, F E, Powell GM, Smith K L. Polyéthylène glycol, *Industrial and Engineering Chemistry* 50 (1), 8 (1958).

[102] HASSOUNA F. Etude des mécanismes de phototransformation de polymères hydrosolubles en milieu aqueux. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal, (2006).

[103]. Porto A O, Gailart Silva G, Magalhaes WF. Polymer Physics, *Journal of Polymer Science*: 37, 219. (1999).

[104] .Pagga, U., D.B. Beimborn, and M. Yamamoto, Biodegradability and compostability of polymers - Test methods and criteria for evaluation. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 1996. 4(3): p. 173-178.

[105] .Bailey Jr., F. E., Powell, G. M., Smith, K. L. *Industrial and Engineering Chemistry* 50 (1), 8. (1958).

[106]. Pang P, Englezos P. *Fluid Phase Equilibria* 194-197, 1059. (2002).

[107]. Seongok H, Chongyoun K, Dongsook K. Thermal/oxidative degradation and stabilization of polyethylene glycol *Polymer* Vol. 38 No. 2, pp. 317-323, (1997).

[108]. SCHUMAN E, BALSAM P E. Probable anaphylactic reaction to polyethylene glycol electrolyte lavage solution. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2 : 19-33.102 (1991).

[109]. VAN BEEK E D. mécanisme de la suppression du cancer par le polyéthylène glycol : il élimine les cellules précancéreuses marquées au dextran fluorescent dans le colon du rat Thèse de doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse (2001).

[110]. Kirpichnikov D, Mcfalane SI, Sowers JR, Metformine, an update, *Ann Intern Med*, 137,25-33,(2002).

[111]. Désiré A, Paillard B, Bougaret J, Baron M, Couarraze G, A comparison of three extrusion systems. Part I: The influence of water content and extrusion speed on pellets properties, *Pharmaceutical Technology*, 56-65, (2011).

[112]. SEYNI A .Propriétés physico-chimiques et d'usage de matériaux composites à charge dégradable produits par co-broyage. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse,(2008).

[113]. Joy, *Scanning* D C. Electron Microscopy in Materials Science and Technology - A Comprehensive Treatment, Ed. by Cahn, R.W., Haasen, P., Kramer, E.J., volume 2A, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, VCH, (1992).

[114]. Mayer I, Epelbon P. Hebrew University, Jerusalem, Israel, ICDD Grant-in-Aid, (1991).

[115]. The South Pacific journal of Natural science,9,53-60,(2007).